

Chapitre IV

Physiologie

Rapport de synthèse

présenté par

A. DISTECHE

La physiologie concerne l'étude des fonctions qui caractérisent la vie. La plupart de ces fonctions sont prises en charge par des systèmes dotés de mécanismes autorégulateurs qui permettent à l'animal ou au végétal de résister à des perturbations du milieu extérieur. Les limites de stabilité déterminent, avec le mode de vie, les conditions dans lesquelles un être vivant peut subsister et, par conséquent, la niche écologique qu'il peut occuper. L'étude de l'action des polluants sur les fonctions vitales, tout en fournissant des explications dans l'optique des sciences fondamentales, peut dès lors déboucher sur des conclusions d'un caractère très général concernant l'écologie, la chaîne alimentaire, la stabilité du milieu marin dans son ensemble.

Les études reprises dans le présent rapport concernent, d'une part, l'effet des métaux lourds sur certains invertébrés et vertébrés et, d'autre part, les effets synergiques des polluants de la mer du Nord sur la croissance de flagellés autotrophes.

A.- EFFETS DES METAUX LOURDS

1.- Invertébrés

Laboratoire du professeur BOUILLON

MM. GERETS, DELHAYE, PERPEET, VLOERBERGH, JANGOUX

1.1.- Effets du cuivre, du mercure et du plomb sur les mollusques (*Mytilus edulis*)

a) Mortalité

La mortalité peut être représentée par le temps nécessaire T_{50} pour réduire de moitié une population donnée. Les expériences ont porté sur des échantillons de 50 individus placés dans 10 l d'eau de mer artificielle aérée auxquels sont ajoutés les métaux lourds :

cuivre	:	0,1 - 5,0 mg/l	(CuSO_4) ,
mercure	:	0,1 - 5,0 mg/l	(HgCl_2) ,
zinc	:	0,1 - 10,0 mg/l	(ZnSO_4) ,
plomb	:	0,1 - 10,0 mg/l	[$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$] .

Il n'a pas été tenu compte de la teneur en métaux lourds de l'eau de mer artificielle (32 % sel marin HW) ni de l'évolution dans le temps des concentrations dans les aquariums. Ces expériences avaient pour but d'établir une échelle comparative de toxicité et de rechercher rapidement quel était l'élément le plus nocif.

Les résultats montrent que les effets toxiques des métaux étudiés s'ordonnent comme suit :

$\text{Cu} > \text{Hg} \gg \text{Zn} \text{ ou } \text{Pb}$.

Il a été observé, pour le cuivre et le mercure, un effet antagoniste : 1 ppm d'un mélange de $\text{Cu}^{++} + \text{Hg}^{++}$ est moins nocif que 1 ppm de Cu^{++} ou 1 ppm de Hg^{++} .

Les figures 1 et 2 montrent comment le T_{50} varie en fonction de la concentration pour le Cu^{++} et le Hg^{++} .

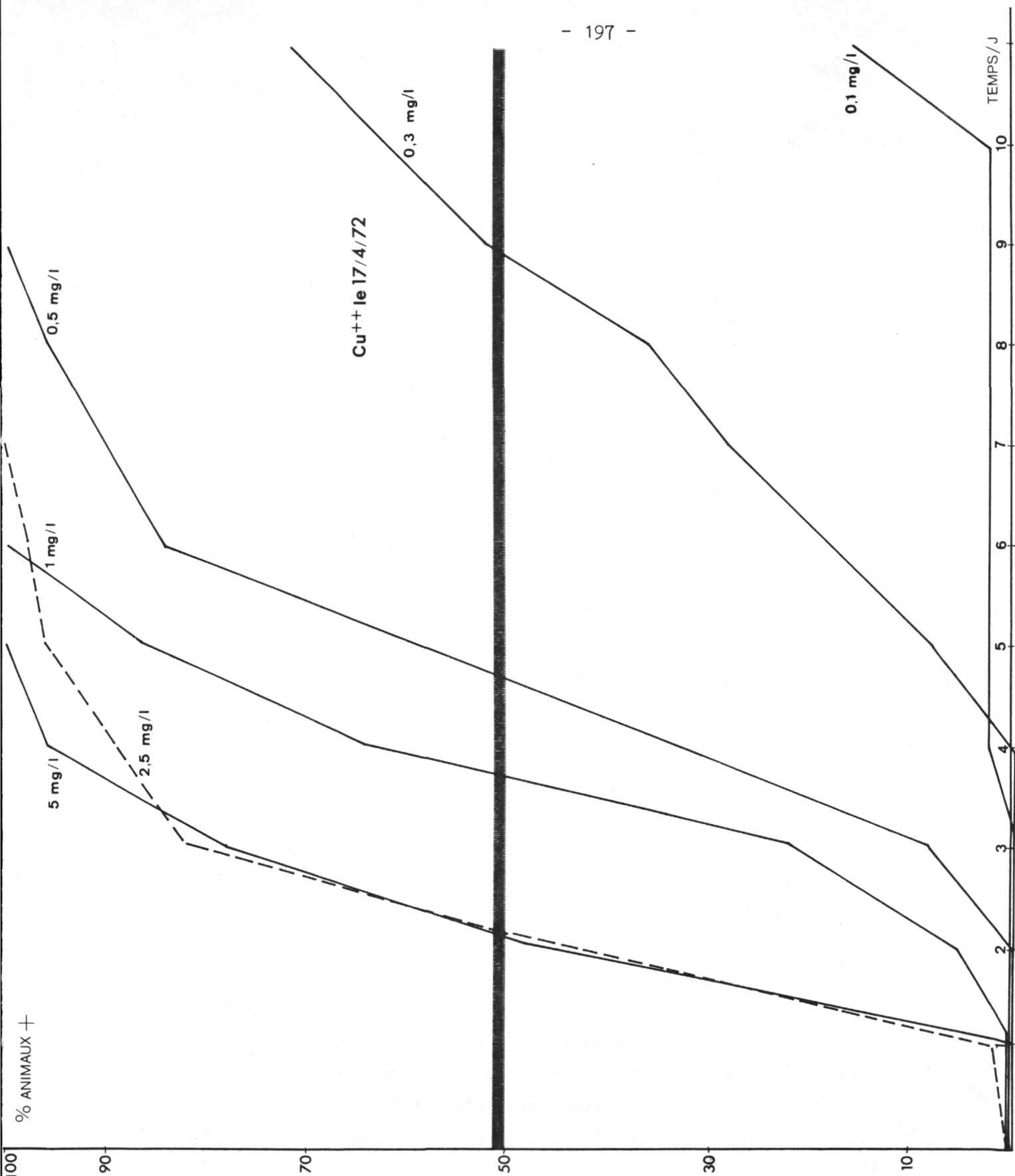


fig. 1.- Effet de la concentration en Cu⁺⁺ de l'eau et du temps d'intoxication sur la mortalité de Mytilus edulis.

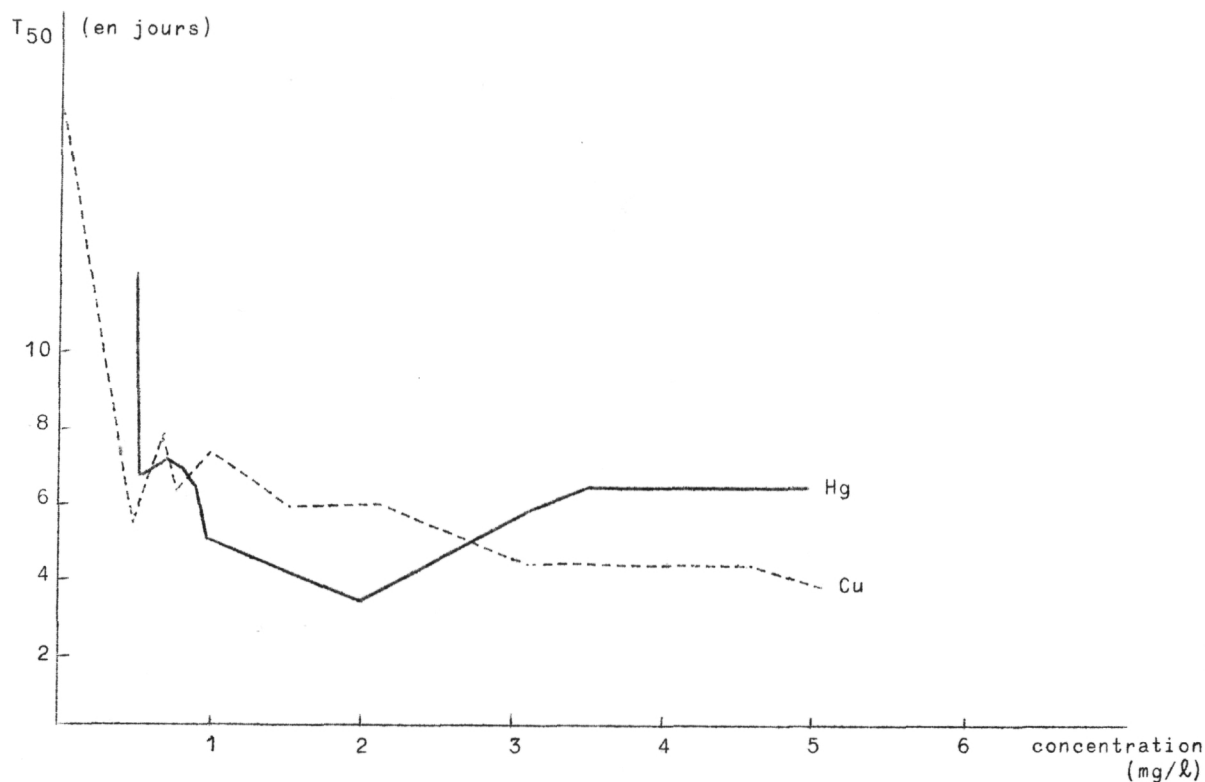


fig. 2.- Variation du T_{50} chez Mytilus edulis en fonction de la concentration en Cu^{++} ou en Hg^{++} dans l'eau.

b) Effets physiologiques

1° Observations générales

1. La glande à byssus

L'activité de cette glande reste plus ou moins normale jusqu'à 0,1 ppm pour le Cu^{++} , 1 ppm pour le Hg^{++} ; elle est réduite pour des concentrations plus élevées et les animaux ne se fixent plus sur leur substrat.

2. La filtration d'eau

La moule renouvelle de 50 à 100 fois son volume en eau par heure pour respirer et se nourrir. La filtration chez les moules diminue en fonction du degré d'intoxication; il y a fermeture des valves, ce qui fait apparaître un temps de latence dans l'effet du toxique (plus long dans le cas du Hg^{++}), durant lequel les échanges avec l'extérieur sont réduits.

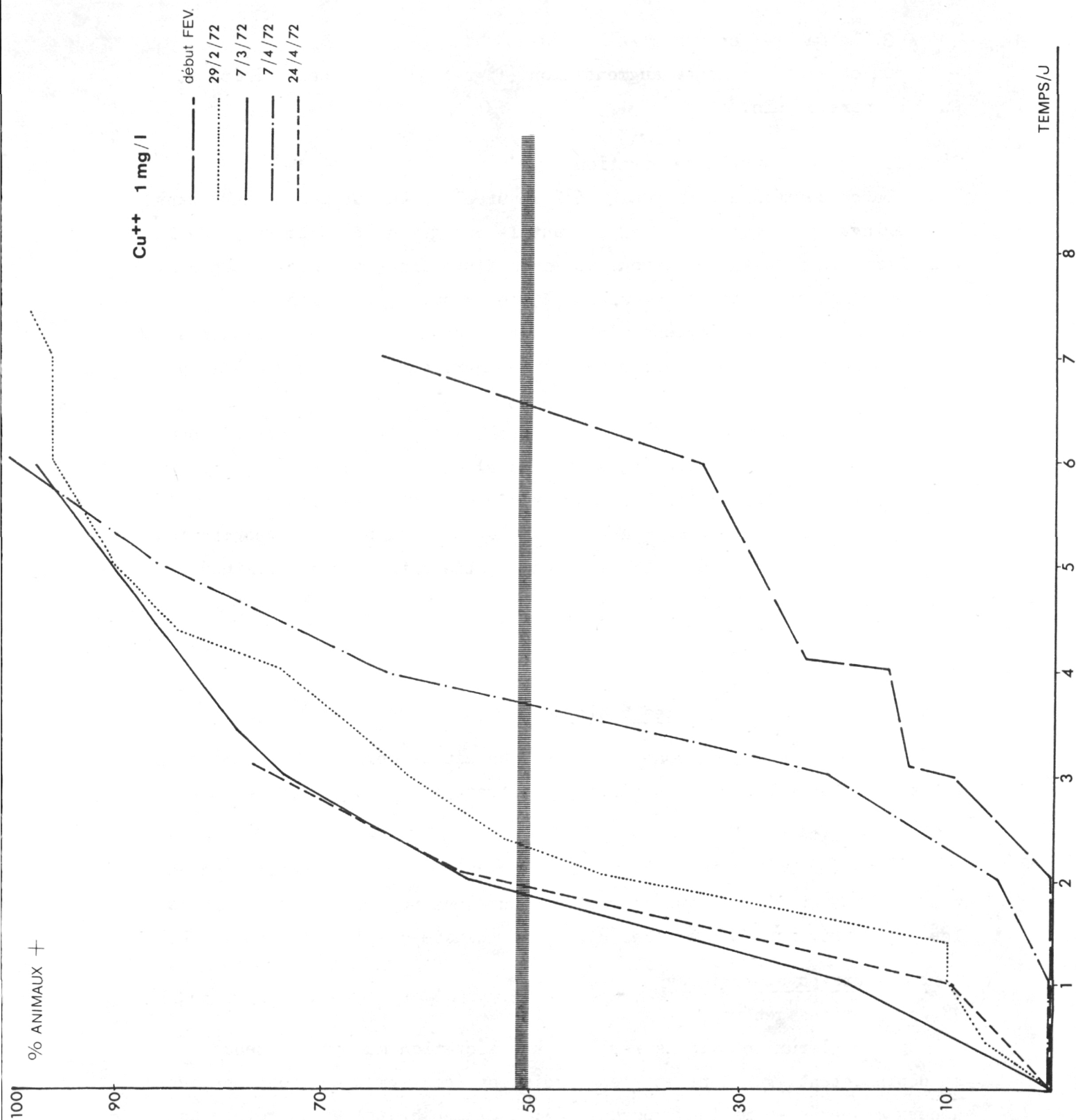


fig. 3.- Effet de la période de reproduction sur la sensibilité au cuivre chez Mytilus edulis.

3. La maturation sexuelle

On observe une nette augmentation (figure 3) de la sensibilité au Cu^{++} de mars à juin.

2° Effet du Cu^{++} sur la respiration

La consommation d'oxygène a été mesurée en plaçant les animaux dans une seringue de 100 cm^3 et en suivant le changement dans le temps de la concentration en oxygène dissous au moyen d'une électrode Beckman-Spinco. La concentration initiale correspond à une pression partielle de 150 mm de Hg. La teneur en oxygène n'étant pas constante dans le milieu, les résultats n'ont qu'une valeur comparative entre eux. Les figures 4 et 5 montrent :

a) moules normales : 50 % de l'oxygène disponible est utilisé par des animaux de poids voisins (3-4 g, 3-8 g) entre 3 et 8 heures : la consommation est maximum pendant la période de ponte (mars);

b) moules intoxiquées : entre 0,025 et 0,13 ppm, la respiration est normale; à partir de 0,25 à 3 ppm, elle est fortement diminuée. L'effet est précoce et réversible jusqu'à 0,25 ppm, le rythme saisonnier reste visible.

1.2.- Effet du cuivre sur les échinodermes (*Asterias rubens*)

Les étoiles de mer sont maintenues en eau de mer artificielle (32 % sel marin HW) à laquelle on ajoute du citrate de cuivre (0,025 à 2 ppm).

a) Mortalité

Asterias rubens est très sensible au cuivre : une concentration de 0,04 ppm de Cu^{++} provoque la mort de toute une population test endéans les 5 jours. Le Cu^{++} est beaucoup plus toxique que le Hg^{++} ou le Pb^{++} .

b) Effets physiologiques

1° Observations générales

Les animaux intoxiqués révèlent une sécrétion muqueuse intense; ils se dépigmentent, gonflent et s'engourdissent (ces symptômes sont analogues à ceux observés en milieu hypotonique); l'examen histologique révèle un bouleversement de l'organisation de l'épithélium externe.

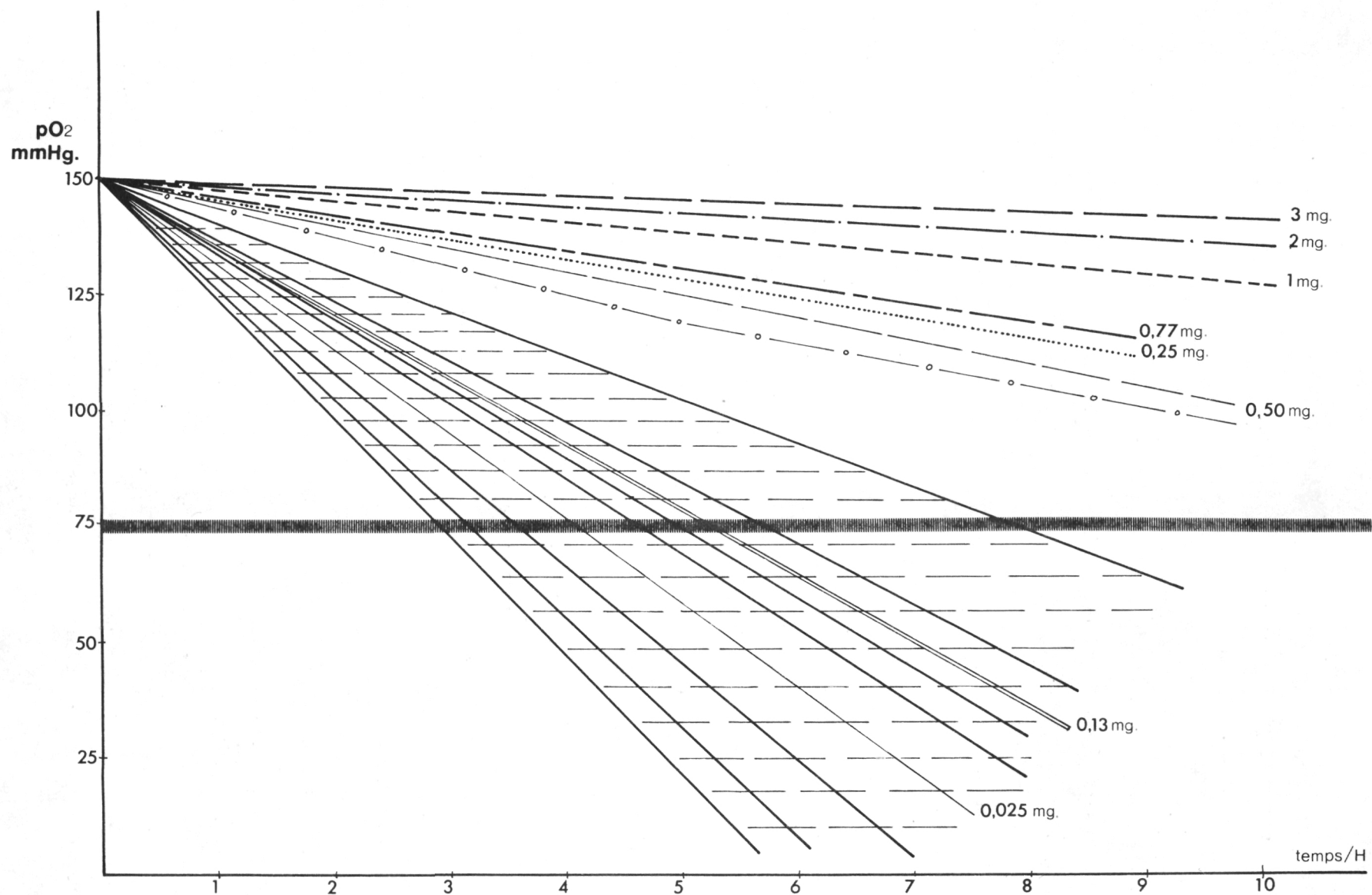


fig. 4.- Effets relatifs de diverses concentrations en Cu^{++} sur la respiration chez *Mytilus edulis*.

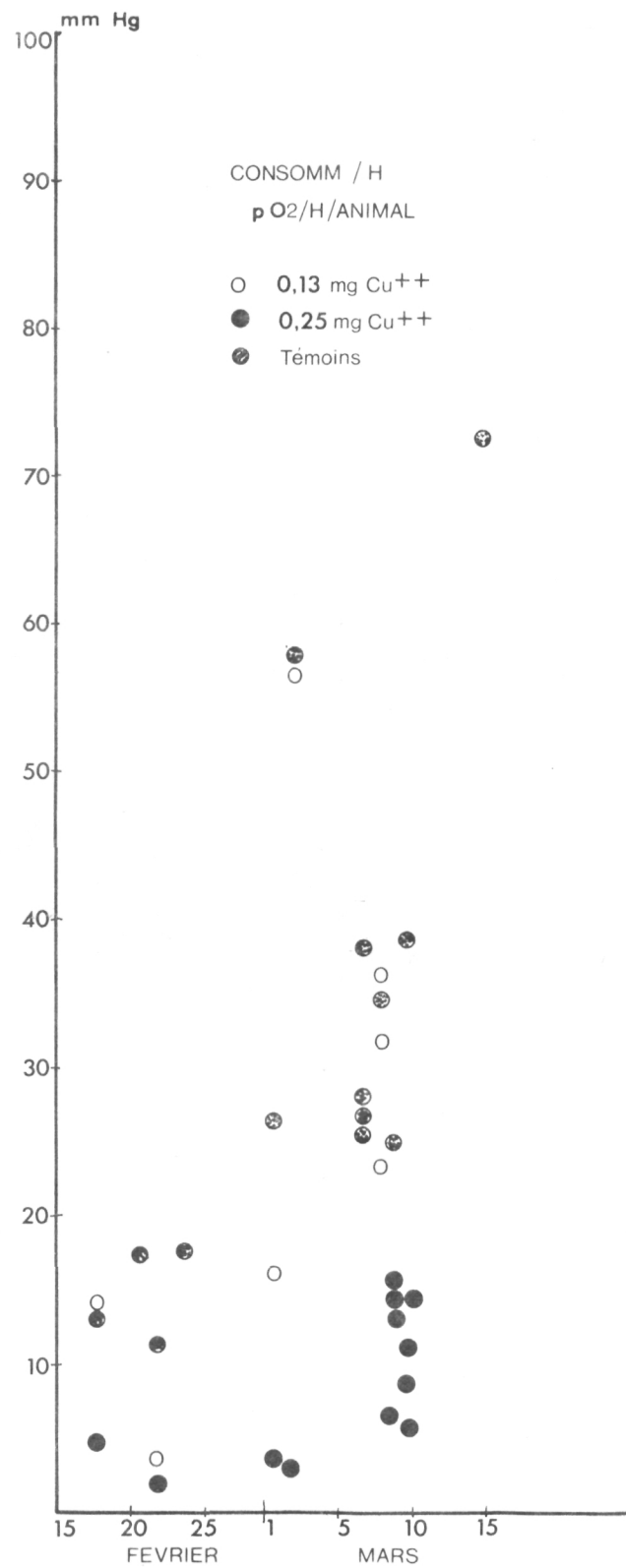


fig. 5.- Effet du rythme saisonnier sur la respiration chez Mytilus edulis en présence d'ions Cu⁺⁺.

2° La respiration

Les échanges respiratoires chez les étoiles de mer se font par diffusion au niveau des pieds ambulacraires et d'excroissances dermiques. La figure 6 montre la consommation d'oxygène par gramme et par heure en fonction du poids de l'animal. On voit, qu'à poids égal, la respiration diminue chez les individus intoxiqués.

c) Recherches enzymologiques et mesure de l'accumulation du Cu dans certains organes

1° Enzymologie

L'activité de la déshydrogénase succinique qui joue un rôle au niveau du cycle de Krebs dans les mécanismes respiratoires est plus faible dans des broyats de podia d'individus intoxiqués; il se pourrait dès lors que le Cu intervienne directement au niveau des enzymes respiratoires.

2° Accumulation dans certains organes

Les figures 7 et 8 montrent que le Cu s'accumule de façon privilégiée dans les podia; les teneurs relativement élevées observées dans le caecum pylorique ne paraissent toutefois pas altérer le comportement de l'étoile de mer.

Conclusions

Les observations faites sur les invertébrés tels que *Mytilus edulis* et *Asterias rubens* montrent essentiellement que la respiration de ces animaux est affectée notamment par le Cu^{++} et que l'étoile de mer est beaucoup plus sensible puisqu'elle réagit à des concentrations qui sont de l'ordre de grandeur de celles que l'on observe à l'embouchure des estuaires. Ces animaux, d'autre part, accumulent le Cu^{++} qui serait, en cas de mortalité massive, remis en circulation.

L'interprétation des observations se heurte à des difficultés considérables du fait de notre méconnaissance de la physiologie normale des invertébrés. De nombreux problèmes fondamentaux sont ainsi posés, mais il semble peu opportun dans le cadre d'études qui servent en fait de support à un ensemble de recherches concernant la pollution en mer du Nord, d'y consacrer beaucoup de temps et d'efforts. L'auteur pense qu'il serait plus

Consommation O₂ en fonction du Poids frais

- Témoin
- 0,100 ppm Cu⁺⁺
- 0,075 »
- △ 0,050 »
- ★ 0,025 »

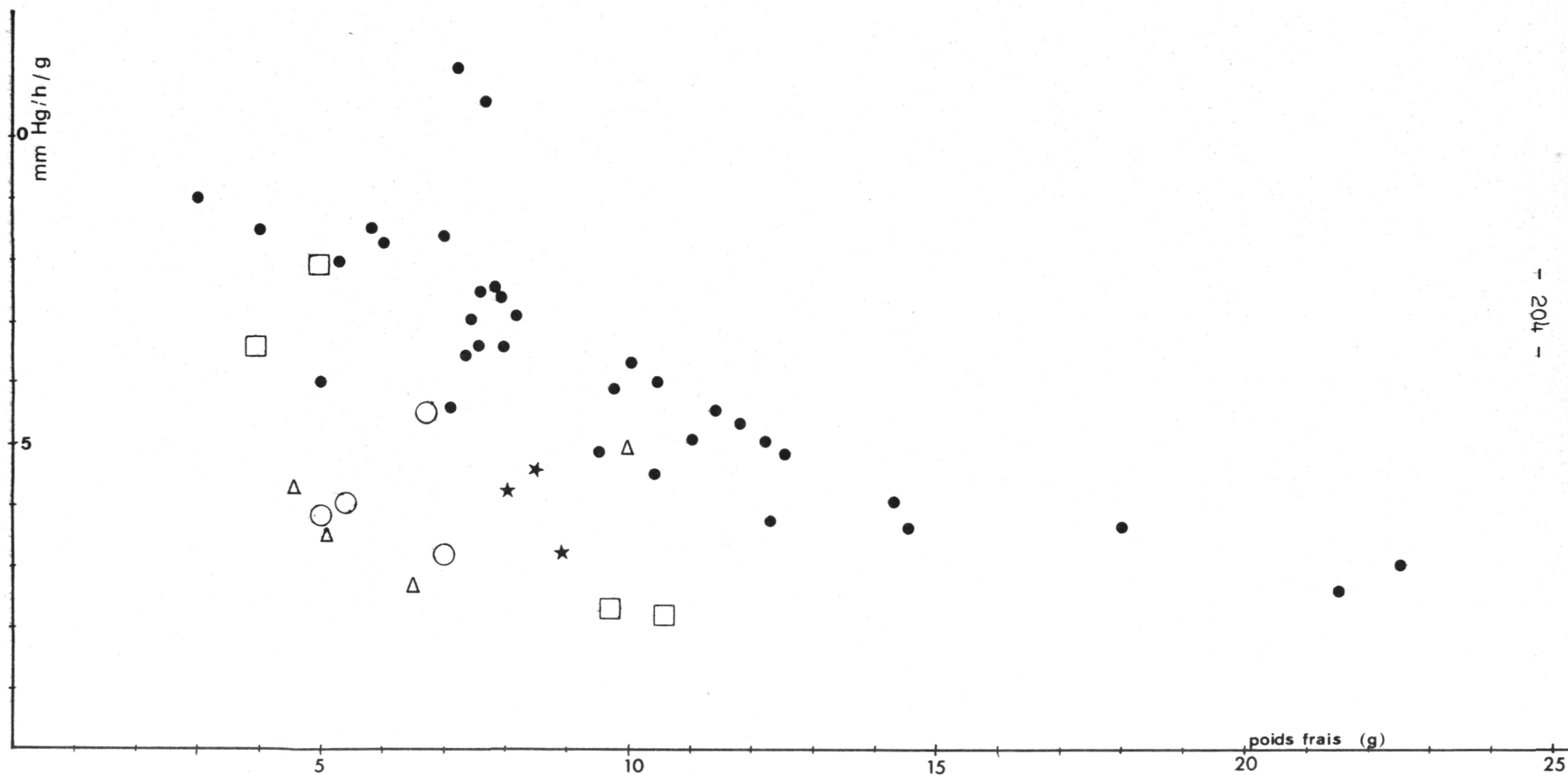
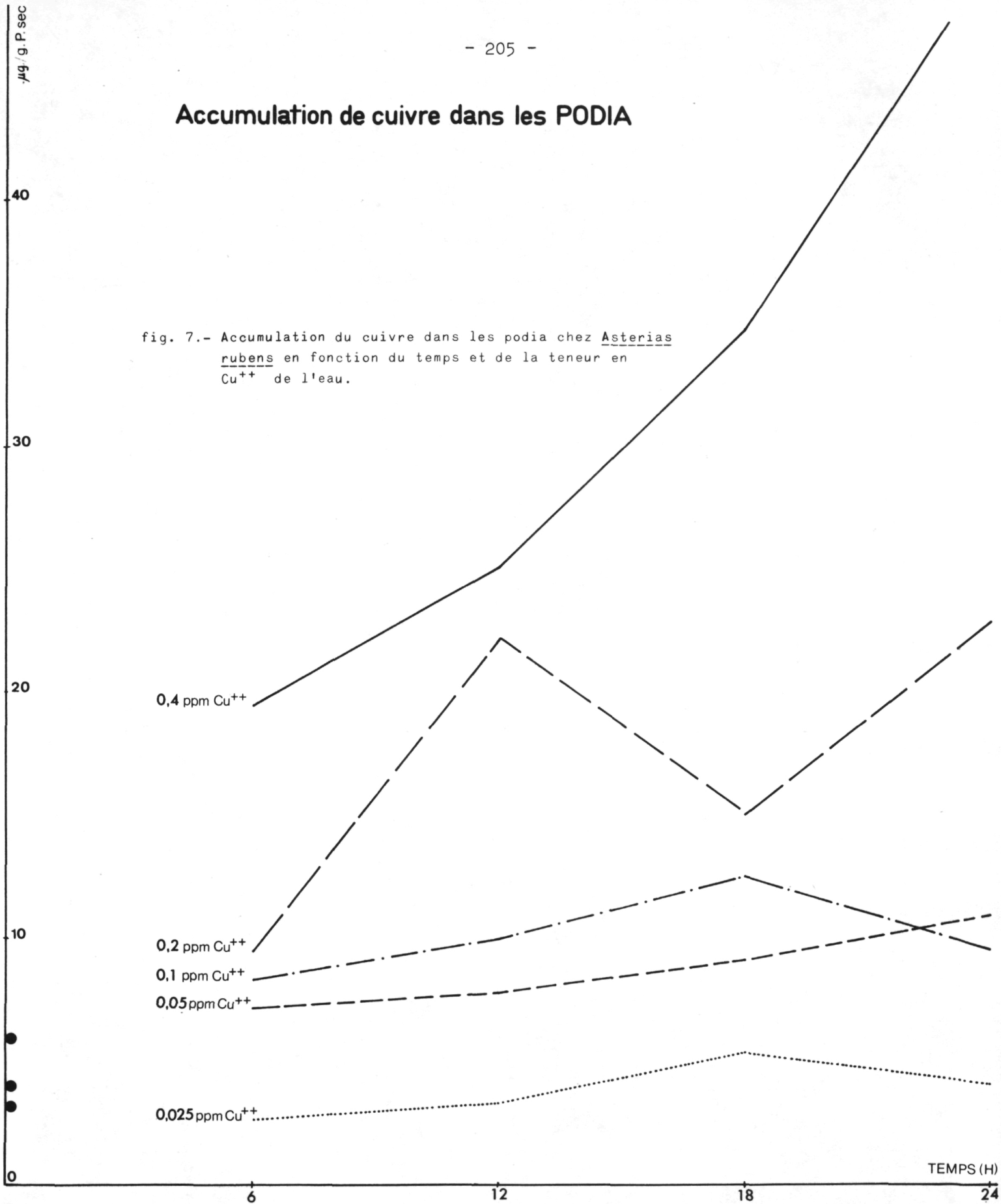


fig. 6.- Consommation d'O₂ chez Asterias rubens par gramme et par heure en fonction du poids de l'animal et effet de diverses concentrations en Cu⁺⁺.

Accumulation de cuivre dans les PODIA

fig. 7.- Accumulation du cuivre dans les podia chez Asterias rubens en fonction du temps et de la teneur en Cu^{++} de l'eau.



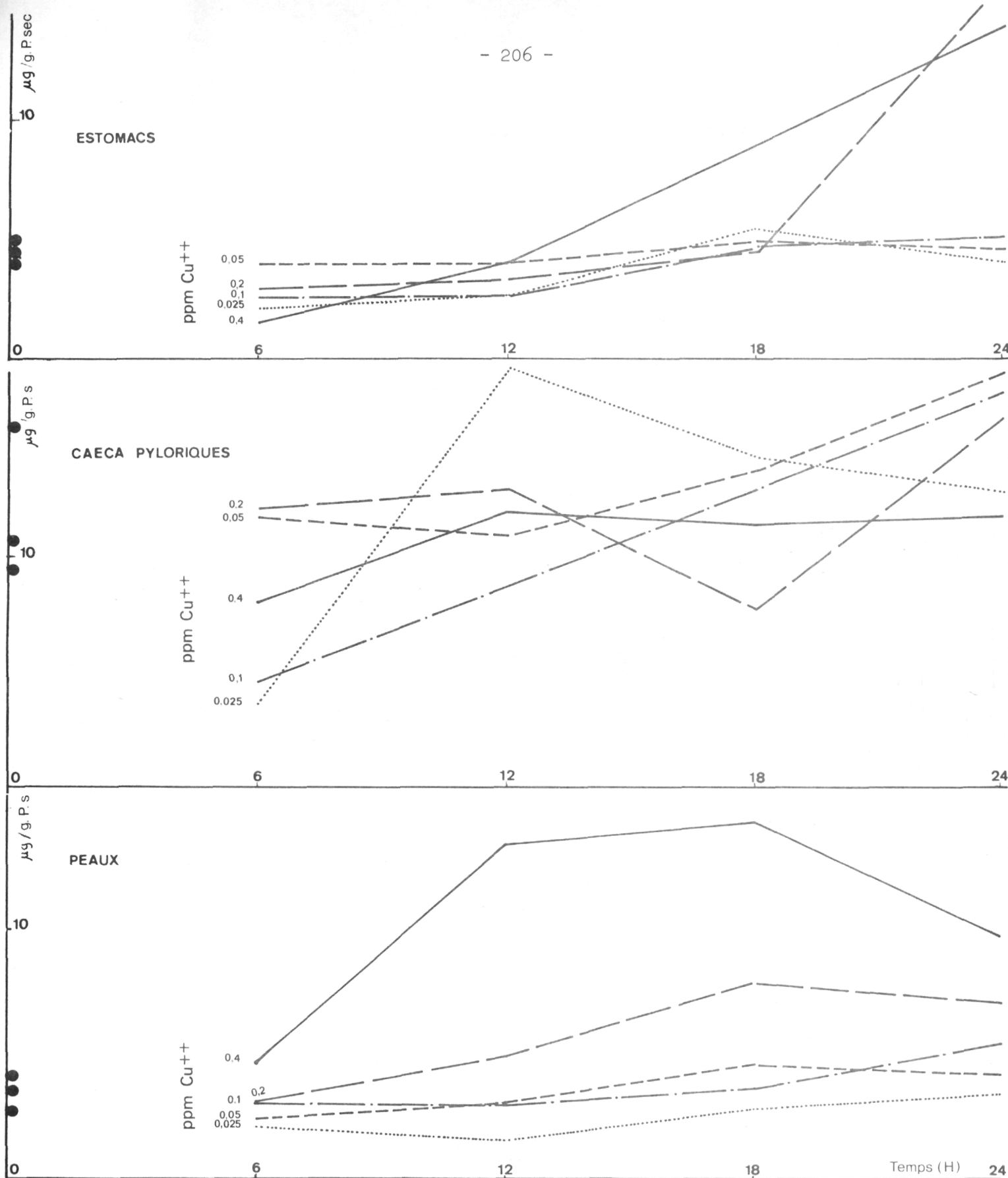


fig. 8.- Accumulation du cuivre dans divers organes d'*Asterias rubens* en fonction du temps et de la teneur en Cu^{++} de l'eau.

indiqué d'étudier, même sommairement, beaucoup d'autres espèces représentatives du monde des invertébrés benthiques qui, en tant que microphages, animaux filtrants ou prédateurs macrophages, jouent un rôle important dans la chaîne alimentaire et aussi dans les phénomènes sédimentaires et chimiques. De nombreux transferts de polluants minéraux peuvent s'effectuer à ce niveau, tandis que les niches écologiques sont affectées par la nature des eaux, impliquant la migration ou la disparition des espèces les moins résistantes. Ces études concernant le degré de toxicité, l'accumulation de métaux lourds, l'effet des pesticides chez les invertébrés, devraient se faire en étroite collaboration avec les écologistes, notamment en ce qui concerne le choix des espèces les plus représentatives.

2.- Vertébrés

Laboratoire du professeur DISTECHE
M. BOUQUEGNEAU, Melle O. MARCQ

2.1.- Organismes *in toto* - Etude d'intoxication par le mercure d'un poisson téléostéen (*Anguilla anguilla*)

a) Accumulation du mercure dans les organes en général

L'accumulation du mercure a été étudiée chez des anguilles gardées dans 10 l d'eau de mer naturelle (Atlantique; réserve d'eau des aquariums de l'Institut de Zoologie à Liège), aérée, renouvelée chaque jour et à laquelle est ajoutée une certaine quantité de HgCl_2 ou de CH_3HgCl . Des anguilles témoins sont gardées en parallèle dans des sacs en polyéthylène identiques.

Les organes étudiés sont, en les classant dans l'ordre de concentration décroissante en Hg accumulé dans une eau contenant 1 ppm de Hg^{++} durant un séjour de 30 heures : branchie, rein, rate, cerveau, sang, peau, muscle, foie, plasma, tube digestif, vessie natatoire, vésicule biliaire + bile.

1° Intoxication de brève durée (5-30 h)

Les résultats indiquent que seules les branchies accumulent Hg^{++} de façon importante.

2° Intoxication de longue durée (1-16 j)

Le Hg^{++} passant dans le sang, la concentration dans les divers organes paraît être liée :

- a) au nombre de sites fixant le mercure (groupe thiols), ce qui expliquerait qu'aux faibles doses subléthales (0,01 ppm), le cerveau soit l'organe le plus atteint;
- b) au débit sanguin de l'organe, ce qui explique que les branchies, le rein, le foie, la rate accumulent davantage que les muscles, l'intestin ou la vessie natatoire;
- c) l'excrétion, ce qui expliquerait que le foie finit par accumuler autant que le rein qui excrète le Hg^{++} tout en étant soumis à une circulation sanguine intense.

Pour des doses différentes et des durées d'intoxication différentes, l'ensemble des résultats est exposé dans 13 diagrammes dont 4 sont repris dans les figures 9, 10, 11 et 12, à titre d'exemple.

On notera que ces figures représentent une analyse compartimentale en fait analogue en principe à celle à laquelle on souhaite aboutir pour l'ensemble du milieu marin à l'étude dans le programme national. L'évolution temporelle de ces diagrammes pour différentes concentrations initiales de Hg dans l'eau permet de se faire une idée grossière de la répartition du Hg dans les organes de l'animal, sans que l'interprétation complète de ces effets ne soit nécessaire, pas plus qu'elle n'est nécessaire pour avoir une vue générale de la répartition des polluants dans les divers compartiments du système marin que nous observons.

La démarche du physiologiste s'inscrit donc parfaitement dans l'esprit général de l'étude interdisciplinaire en cours pour aboutir à un modèle de la mer du Nord, grand système dans lequel les sous-systèmes avec leurs propriétés chimiques et biologiques constituent en fait autant d'organes aux fonctions variées et interdépendantes.

b) Accumulation du mercure dans les branchies

La branchie étant l'organe qui finit par accumuler le plus, elle a été étudiée en détail.

La figure 13 montre l'évolution temporelle de l'accumulation en fonction des teneurs de l'eau de mer en $HgCl_2$. On voit que l'accumulation est relativement plus rapide aux basses concentrations.

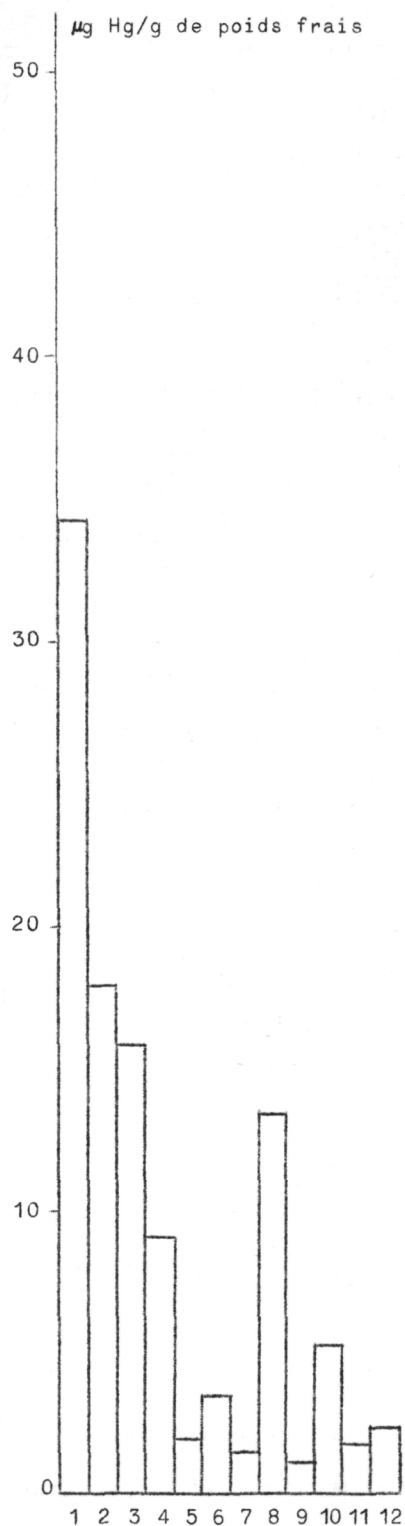


fig. 9

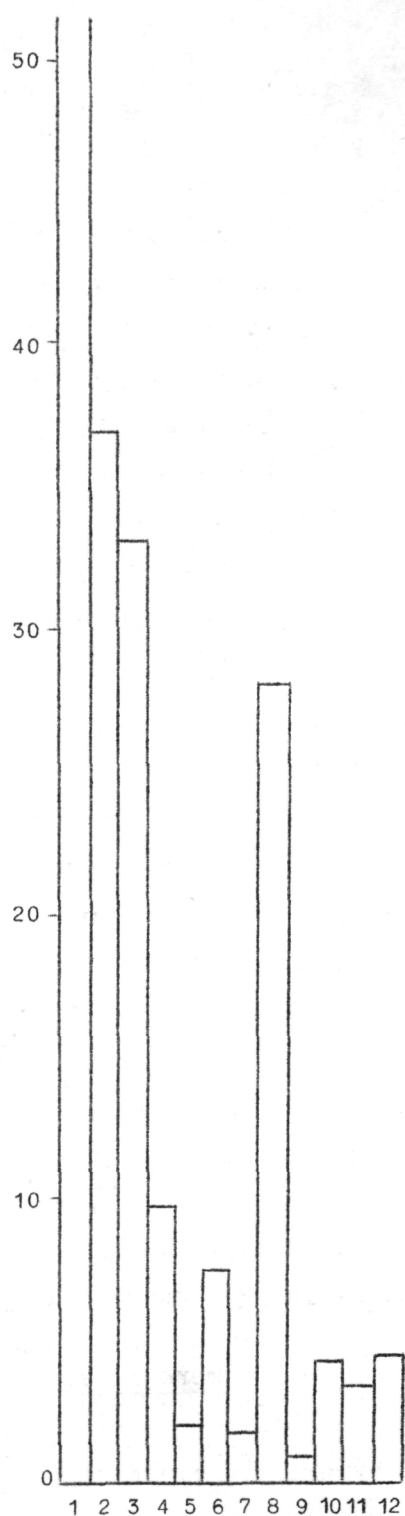


fig. 10

Accumulation du mercure dans divers organes d'anguilles ayant séjourné pendant 8 jours (fig. 9) et 16 jours (fig. 10) dans de l'eau de mer contenant 0,1 ppm de Hg (sous forme de HgCl_2).

1 : Branchies

4 : Cerveau

7 : Muscles

10 : Tube digestif

2 : Rein

5 : Sang

8 : Foie

11 : Vessie natatoire

3 : Rate

6 : Peau

9 : Plasma

12 : Vésicule biliaire

+ bile

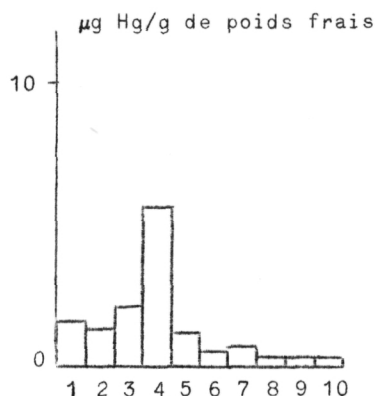


fig. 11

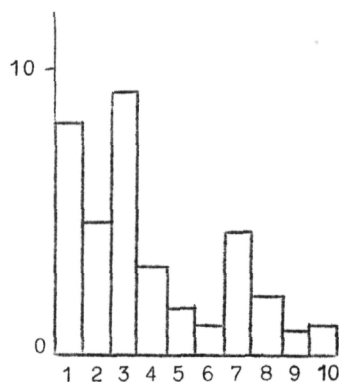


fig. 12

Accumulation du mercure dans divers organes d'anguilles ayant séjourné 8 jours (fig. 11) et 16 jours (fig. 12) dans de l'eau de mer contenant 0,01 ppm de Hg (sous forme de HgCl_2).

1 : Branchies
2 : Rein
3 : Rate
4 : Cerveau

5 : Peau
6 : Muscles
7 : Foie

8 : Tube digestif
9 : Vessie natatoire
10 : Vésicule biliaire + bile

Pour atteindre 8 ppm dans la branchie, il faut un séjour de :

2 h dans une eau à 10 ppm
27 h dans une eau à 1 ppm
2,5 j. dans une eau à 0,1 ppm
15 j. dans une eau à 0,01 ppm .

Ces résultats indiquent aussi que, quelle que soit la concentration, la branchie peut accumuler du mercure.

c) Effet du mercure sur l'osmorégulation

Les poissons marins perdent de l'eau puisqu'ils vivent dans un milieu hypertonique par rapport à leur milieu interne. La perte est compensée au niveau des intestins, mais la régulation des concentrations ioniques se fait au niveau des branchies qui rejettent les ions monovalents, et des reins qui expulsent les ions divalents.

Les anguilles qui peuvent passer de l'eau de mer en eau douce ont un mécanisme d'osmorégulation très efficace et se prêtent donc bien à l'étude de ce phénomène.

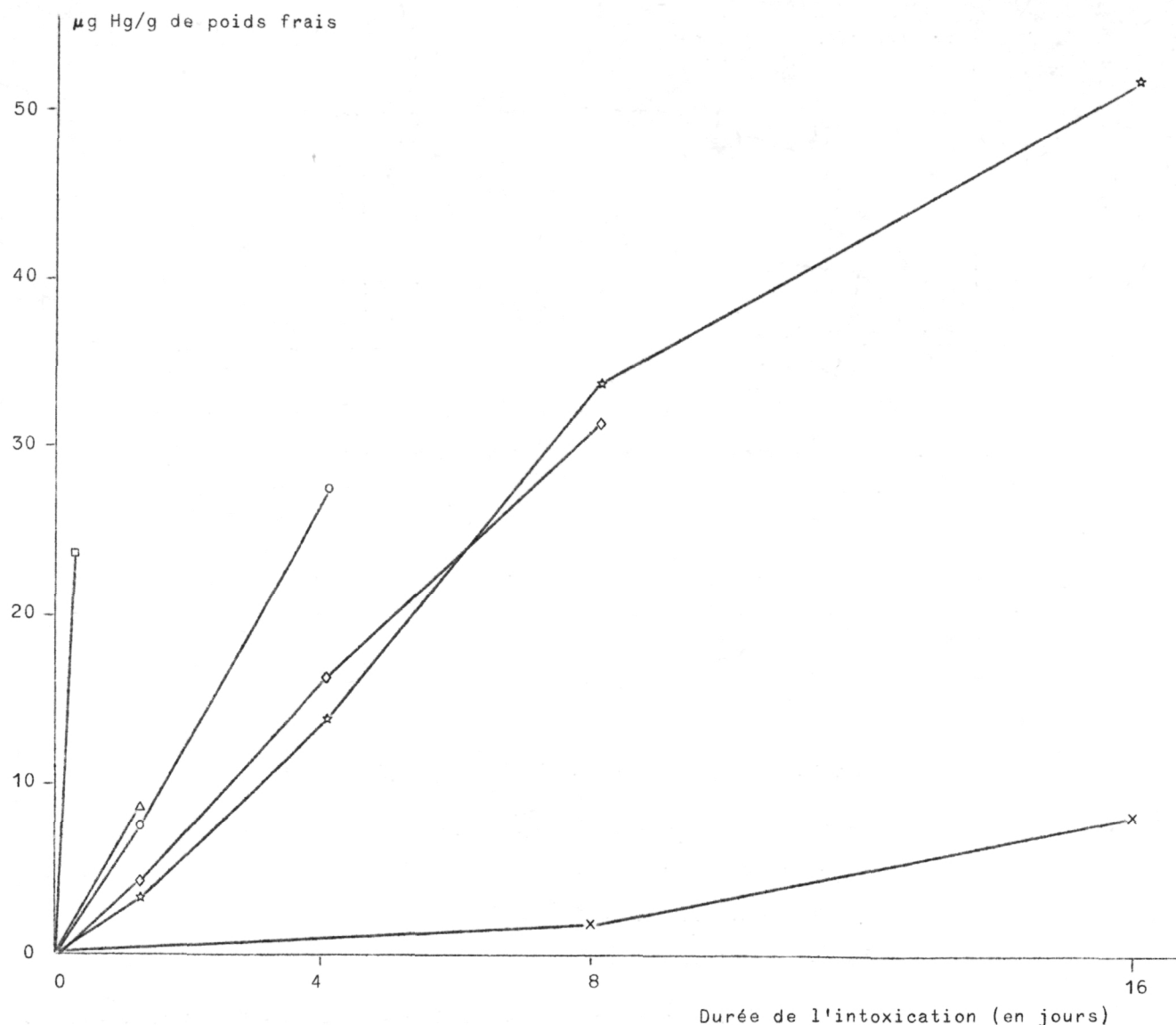


fig. 13.- Accumulation du mercure dans la branchie en fonction de la concentration en mercure (sous forme de HgCl_2) dans l'eau de mer et du temps d'intoxication.

- | | |
|----------------------------|-----------------------------|
| □ 10 ppm de Hg dans l'eau | ◇ 0,2 ppm de Hg dans l'eau |
| △ 1 ppm de Hg dans l'eau | ★ 0,1 ppm de Hg dans l'eau |
| ○ 0,5 ppm de Hg dans l'eau | × 0,01 ppm de Hg dans l'eau |

1° Effet du mercure sur la balance ionique dans le plasma

La figure 14 montre que la concentration en Na^+ augmente fortement après intoxication par une dose élevée de Hg (10 ppm). Les anguilles meurent après 6 h. Aux plus faibles concentrations, on constate qu'il

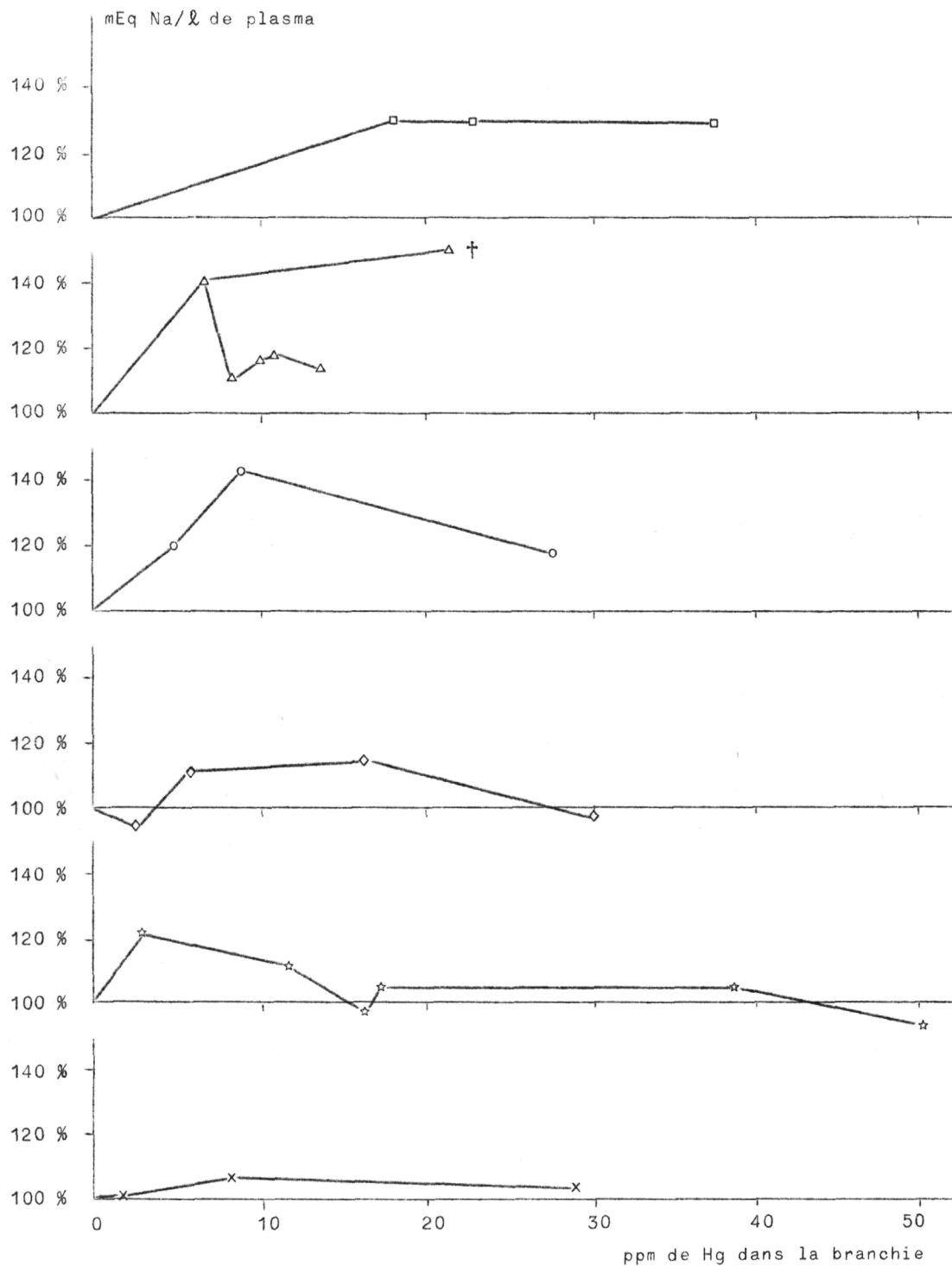


fig. 14.- Relation entre la concentration en Hg dans les branchies et la concentration en Na du plasma (100 % = valeur de la concentration en Na dans le plasma chez les anguilles témoins).

Concentration en Hg dans l'eau :

- | | | |
|----------|-----------|------------|
| □ 10 ppm | ○ 0,5 ppm | ☆ 0,1 ppm |
| △ 1 ppm | ◇ 0,2 ppm | × 0,01 ppm |

y a adaptation et que l'osmorégulation se rétablit après une perturbation passagère.

On peut donc distinguer l'effet subléthal de l'effet léthal et les résultats obtenus dans de l'eau contenant 1 ppm de Hg^{++} sont très significatifs. Le point marqué d'une croix correspond à une anguille qui est morte à l'instant où l'expérimentateur s'apprêtait à effectuer la ponction cardiaque. On peut considérer que cet animal, plus sensible que les autres, avait atteint le seuil critique où l'effet du mercure sur les branchies est léthal. Les autres spécimens du même lot se sont adaptés.

Il semble d'après l'ensemble des résultats que, lorsque l'anguille atteint en quelques heures après intoxication aiguë une teneur de 10 ppm dans les branchies, l'effet de l'osmorégulation soit irréversible et léthal. Si cette concentration seuil est atteinte en un temps relativement long, lorsque la teneur de l'eau est inférieure à 1 ppm, l'anguille s'adapte. La régulation du taux de Na^+ se rétablit tandis que les branchies continuent à accumuler des quantités importantes de mercure, qui passent ensuite dans les autres organes.

Les répercussions des Hg^{++} sur les ions Cl^- sont identiques à l'effet sur Na^+ mais la teneur en K^+ du plasma n'est pas perturbée. La mort paraît bien due au déséquilibre osmotique et pas à un effet secondaire sur la respiration, par exemple.

2° Effet du mercure sur la balance ionique dans la branchie

Les figures 15 et 16 montrent que les résultats concernant la répartition des ions dans la branchie sont en accord avec ce qui a été observé dans le plasma. L'équilibre ionique est perturbé par Hg^{++} et il est ici également possible de distinguer l'effet léthal de l'effet subléthal. Il semble dès lors bien établi que la perturbation au niveau des branchies est l'un des facteurs principaux dans l'intoxication de l'anguille par les sels de mercure.

L'explication de l'adaptation de l'anguille aux doses subléthales demande l'examen de nombreux facteurs : le rein pourrait intervenir en éliminant $NaCl$, les cellules à chlorure des branchies pourraient avoir le temps de se régénérer, le mercure migrerait dans les autres organes et pourrait être métabolisé. Le rôle excréteur du rein devrait également être précisé.

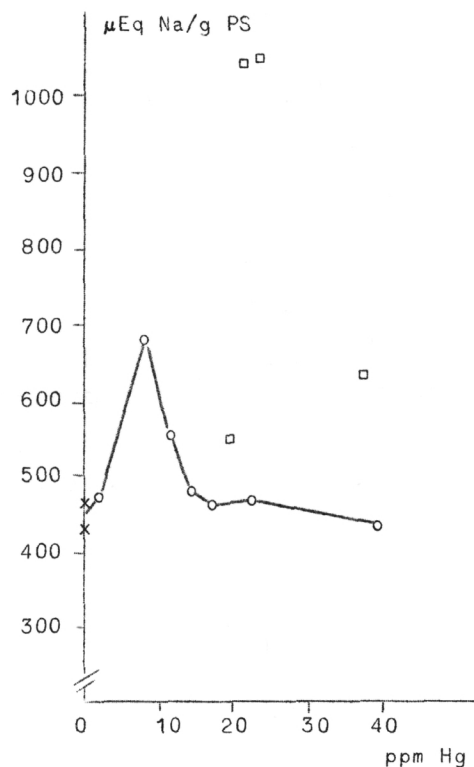
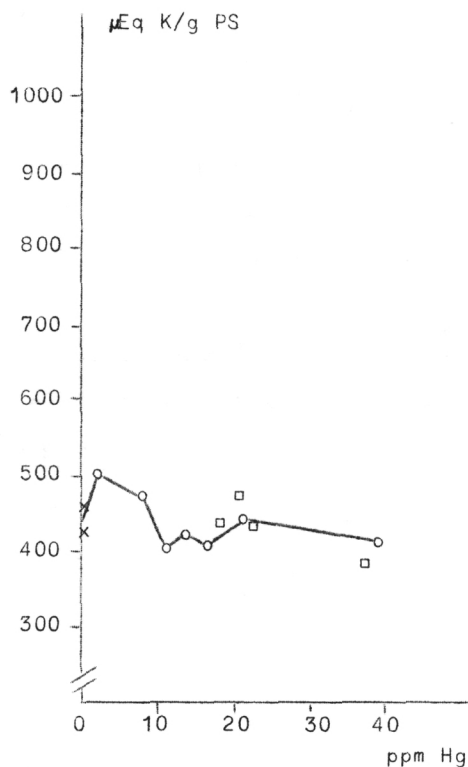
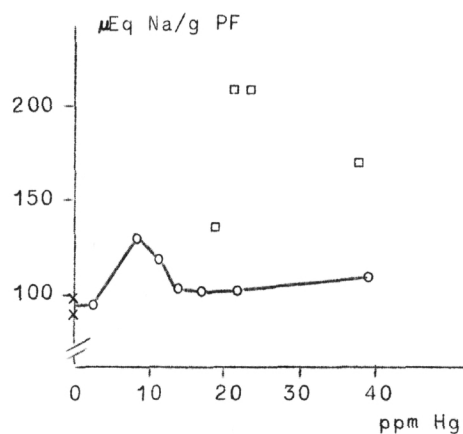
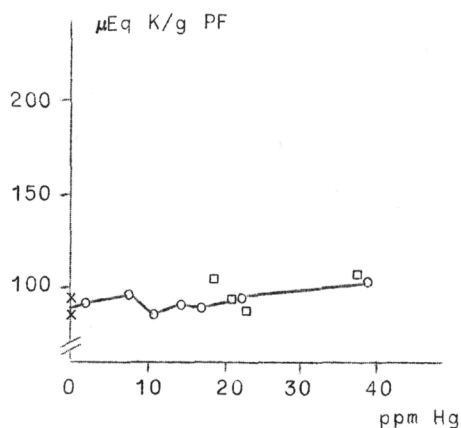


fig. 15.- Relation entre la concentration en Hg et en K de la branchie.

fig. 16.- Relation entre la concentration en Hg et en Na de la branchie.

PF = poids frais; PS = poids sec; x : témoins; o : effet subléthal; a : effet léthal.

Des essais préliminaires avec de l'eau de mer contenant du chlorure de méthyl-Hg montrent que l'action de ce composé est un peu différente de celle de HgCl_2 : il se concentre surtout dans le cerveau, les muscles et les branchies.

Conclusions

Il ressort de ce travail :

- 1) que l'anguille accumule du mercure présent dans l'eau de mer à des doses subléthales et qu'elle s'adapte parfaitement;
- 2) qu'aux niveaux de pollution très faibles, les poissons les plus âgés sont les plus dangereux;
- 3) que la notion de seuil à partir duquel un milieu est déclaré toxique ou pas est imprécise pour des animaux capables de survivre tout en accumulant, tant qu'on ne connaît pas la cinétique de ce phénomène, l'âge auquel l'animal est éventuellement consommé, le seuil admissible par l'homme;
- 4) que les eaux les moins polluées, où il y a le plus d'animaux susceptibles d'accumuler des substances toxiques tout en restant bien en vie, sont en fait les plus dangereuses pour l'homme;
- 5) qu'il est urgent de procéder à l'étude de l'effet de concentrations subléthales en métaux lourds sur d'autres espèces de poissons pour vérifier les présentes conclusions;
- 6) qu'il conviendrait d'étudier non seulement la cinétique de l'intoxication par voie directe au contact de l'eau, mais aussi l'accumulation associée au fonctionnement de la chaîne alimentaire.

2.2.- Organes isolés - Etude de l'effet des métaux lourds sur l'électrophysiologie des tissus cardiaques et de la fibre cardiaque isolée (*Anguilla anguilla*)

Les organismes vivants protègent leur milieu grâce aux qualités de leurs membranes cellulaires. La perméabilité de celles-ci vis-à-vis des ions est capitale pour le fonctionnement général des cellules. Elle détermine leur excitabilité et confère à certaines, telles les cellules musculaires et nerveuses, la propriété de transmettre des messages de nature électrique.

Les techniques électrophysiologiques (micro-électrodes, méthode du sucrose-gap) permettent de mettre en évidence le potentiel électrique des membranes cellulaires, de montrer comment il dépend des concentrations ioniques internes et externes et de mesurer les courants ioniques entrants

et sortants résultant d'un changement de polarisation lié à la variation de la perméabilité membranaire. L'étude de l'effet de métaux lourds sur ces phénomènes très généraux de l'activité cellulaire nécessite une étude préalable des propriétés de la préparation physiologique suffisamment précise, pour mettre ensuite en évidence les perturbations causées par un ion déterminé.

1° Etude préliminaire de la préparation

La figure 17 montre la variation des courants ioniques entrants ou sortants en fonction du potentiel imposé à la membrane; le courant entrant correspond à une augmentation rapide de la perméabilité au Na^+ , très vite inactivée, auquel se superpose un courant dû au passage des ions Ca^{++} qui est activé et inactivé beaucoup plus lentement (fig. 18). Le courant sortant est dû aux ions K^+ . Ces courbes permettent d'expliquer l'allure

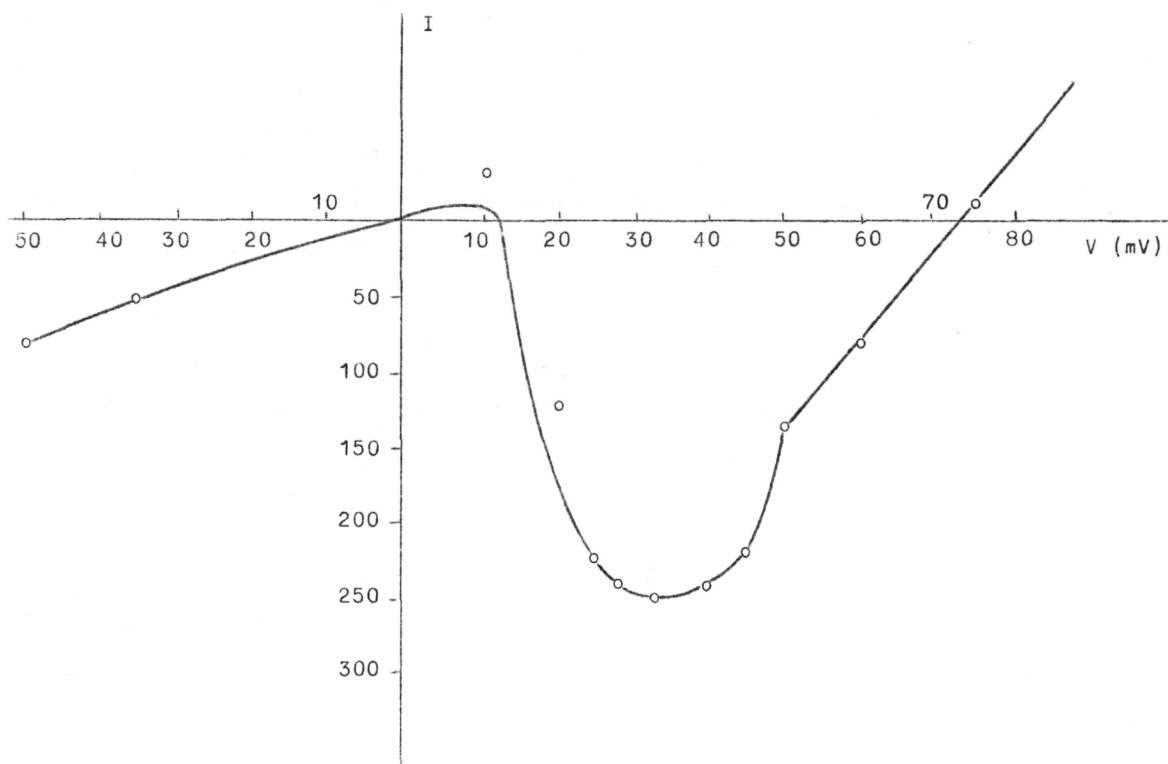


fig. 17.- Caractéristique courant-potentiel dans la solution physiologique normale. Le courant est mesuré à sa valeur maximale entrante ou minimale sortante. Courant entrant vers le bas - Courant sortant vers le haut. En abscisse, intensité du courant en unité arbitraire.

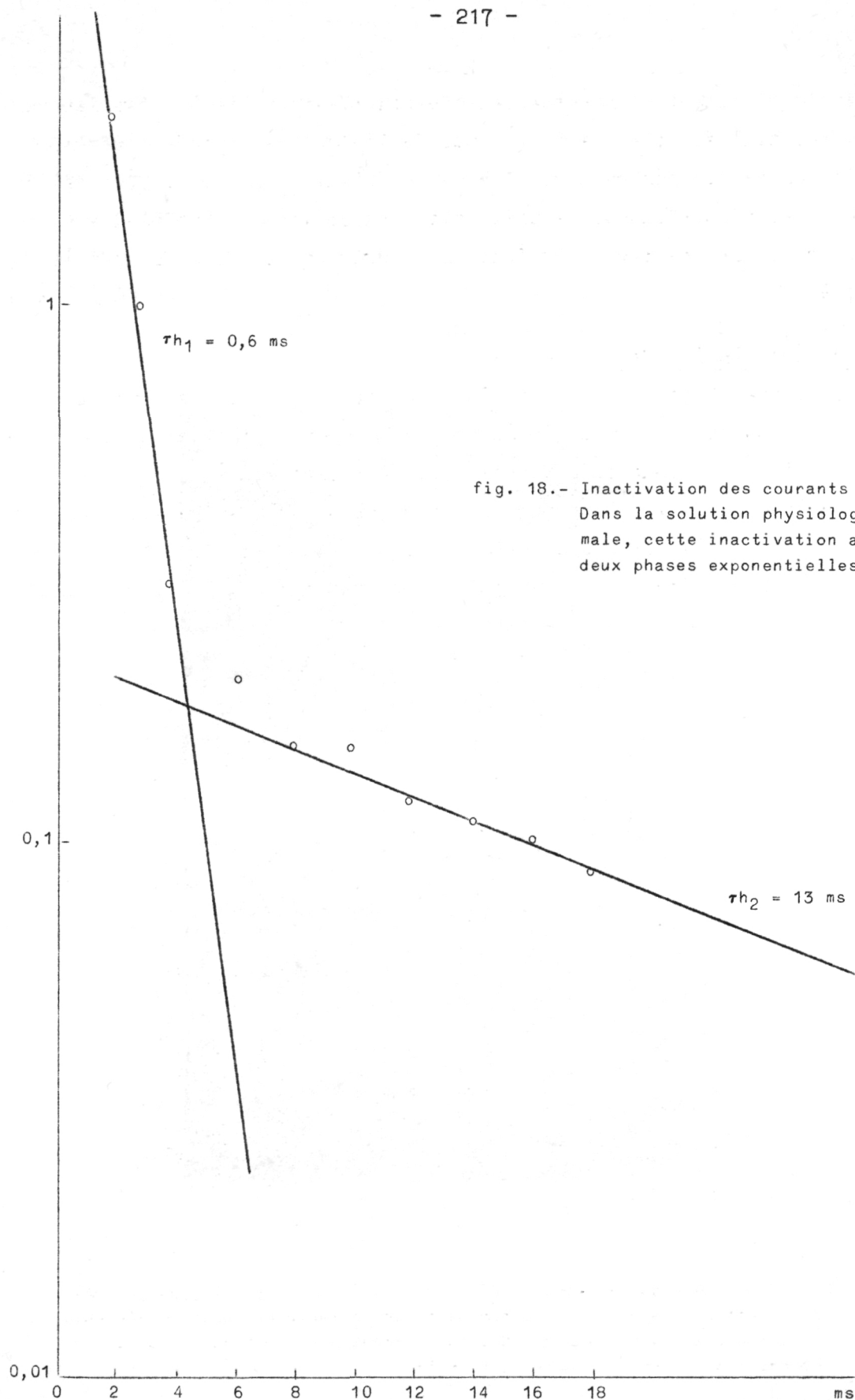


fig. 18.- Inactivation des courants entrants. Dans la solution physiologique normale, cette inactivation a lieu en deux phases exponentielles.

du potentiel d'action déclenché par la stimulation électrique artificielle de la fibre cardiaque ou par l'activité automatique de l'oreillette (cf. fig. 19 et 20). On peut montrer que le rapport $\frac{Ca^{++}}{(Na^{+})^2}$ est important et qu'il détermine la réponse optimale de la préparation. On sait que le Ca^{++} joue un rôle particulier dans le déclenchement de la contraction musculaire et sa pénétration dans la fibre correspond à la partie quelque peu aplatie du sommet du potentiel d'action.

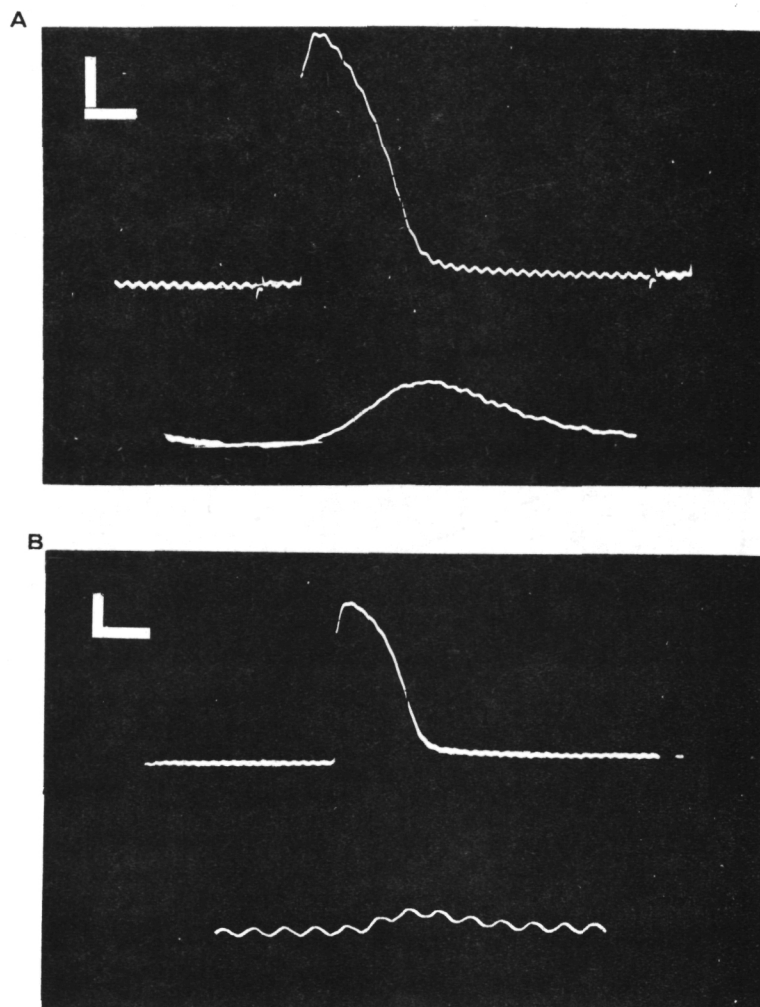


fig. 19.- Enregistrement de l'activité électrique et mécanique dans une solution contenant (A) 2,6 mM $CaCl_2$ (B) 1,3 mM $CaCl_2$. Calibrage vertical : 20 mV. Calibrage horizontal : (A) 100 ms (B) 200 ms. Tracé du haut : réponse électrique; tracé du bas : réponse mécanique.

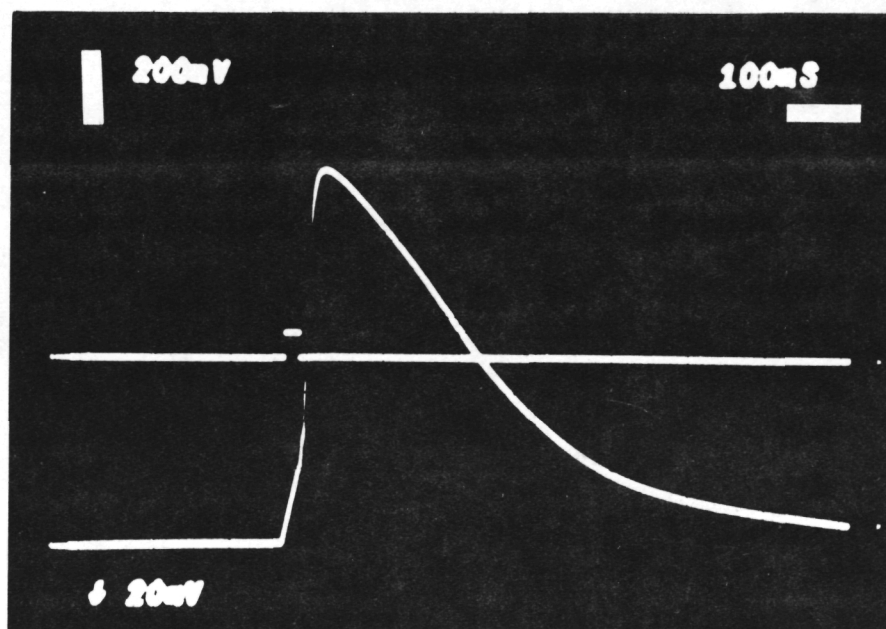


fig. 20.- Enregistrement du potentiel d'action dans la solution physiologique contenant 2,6 mM de CaCl_2 (par la méthode du double sucrose gap). Calibrage vertical : pour la stimulation; calibrage horizontal : pour la réponse.

2° Effets des métaux lourds

a) Effets sur l'amplitude de la contraction automatique de l'oreillette

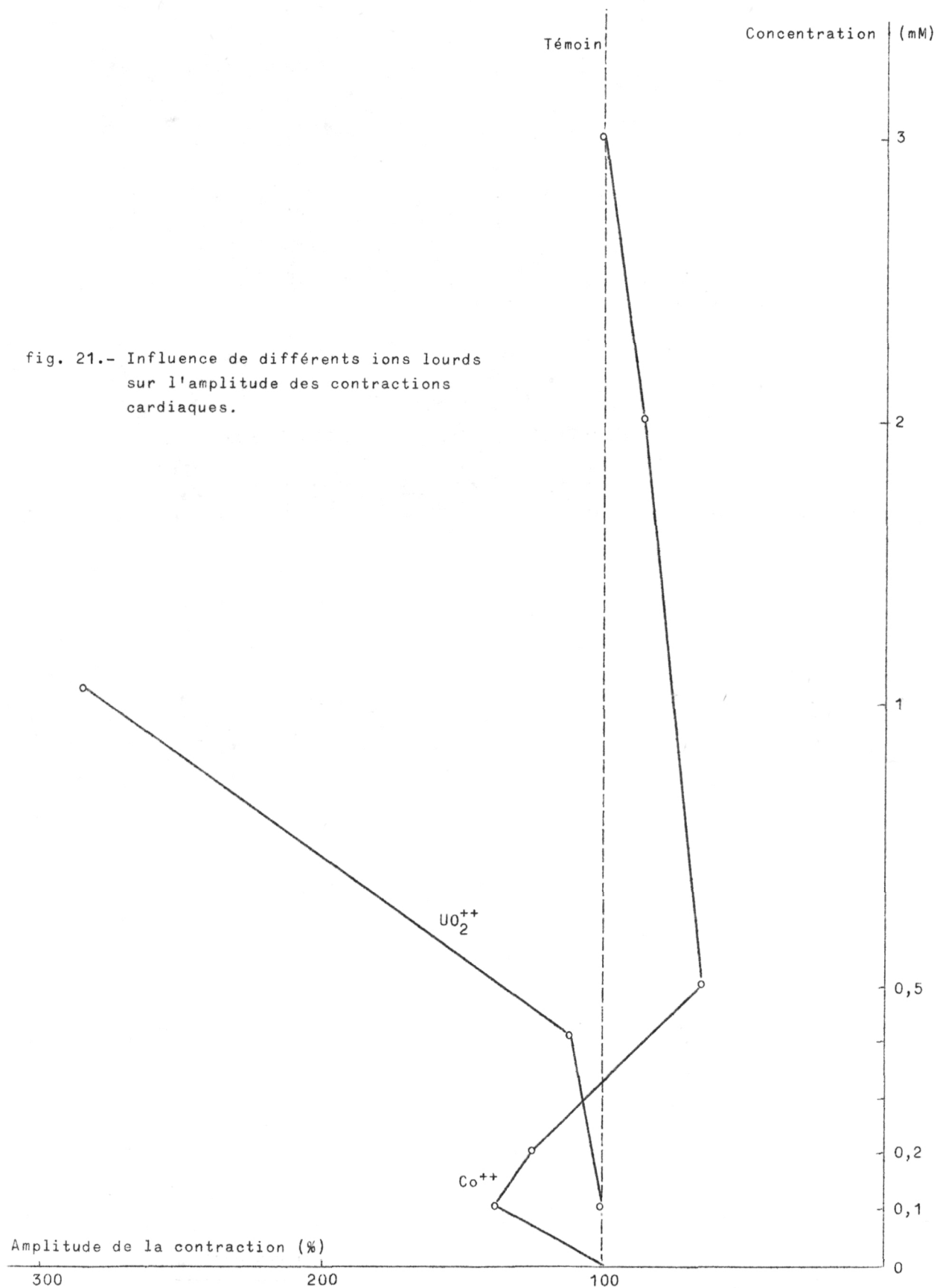
La figure 21 montre que les ions Co^{++} , UO_2^{++} ont un effet potentialisateur; la figure 22 indique que les ions Pb^{++} et Cd^{++} sont inhibiteurs et que les ions Zn^{++} , Mn^{++} , Cu^{++} , Ni^{++} ont un effet potentialisateur suivi d'une inhibition aux plus fortes concentrations.

L'interprétation de ces résultats est difficile et pourrait être en relation avec le blocage de groupements thiols. Plus intéressant est de noter l'effet protecteur du Ca^{++} , qui intervient dans le couplage excitation-contraction : en présence de 5,2 mM de Ca^{++} , 0,01 mM de PbCl_2 provoque une contraction égale à 105 % de la valeur normale; l'amplitude tombe à 75 % si l'on abaisse la teneur du CaCl_2 de moitié.

b) Effet du mercure

1.- Effet sur l'amplitude de la contraction de l'oreillette

La figure 23 indique que l'effet de Hg^{++} se manifeste en fonction de la concentration par une phase dépressive, suivie d'une potentiation et ensuite d'une nouvelle phase dépressive qui aboutit à l'arrêt



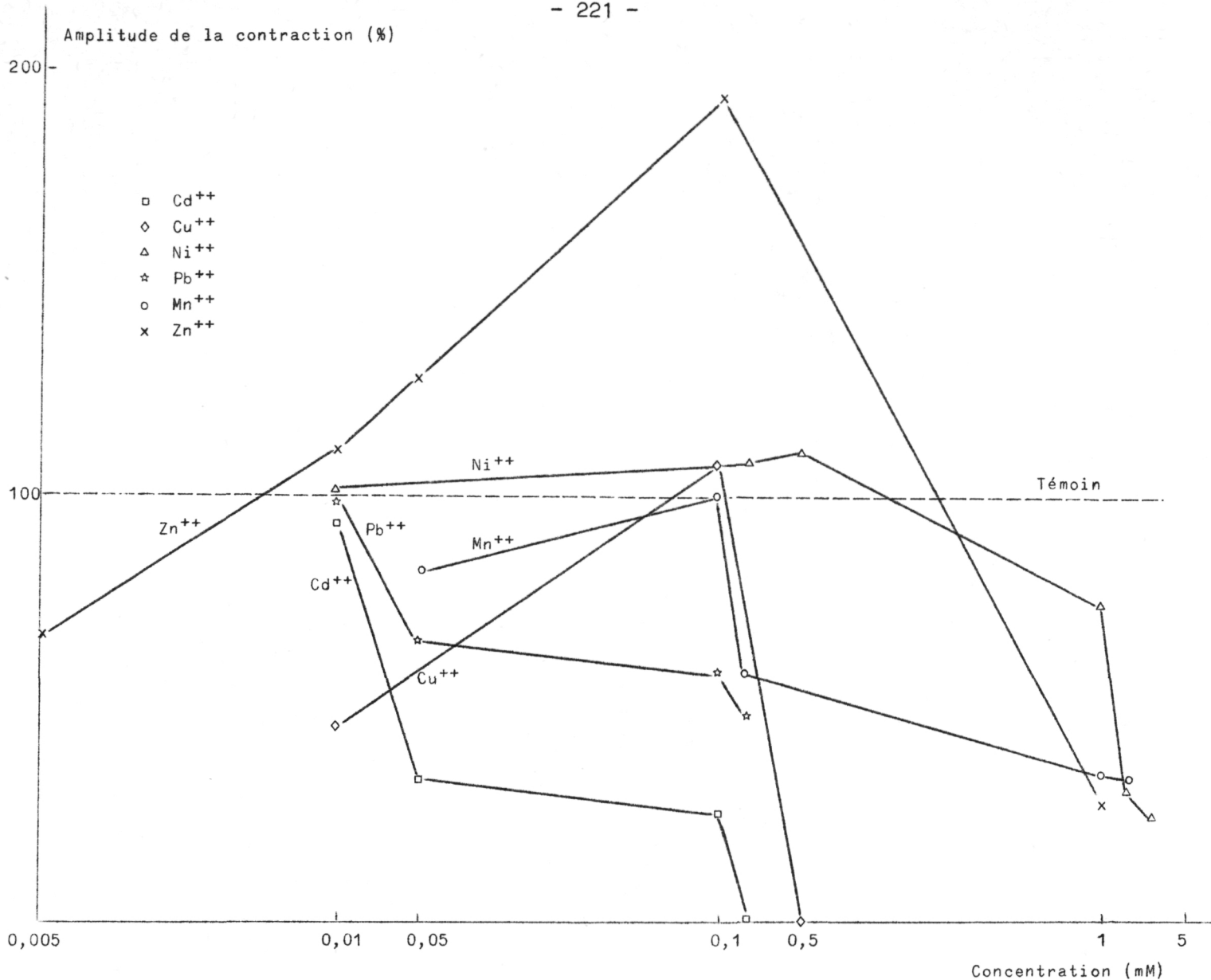


fig. 22.- Effet de différents ions lourds sur l'amplitude des contractions cardiaques.

irréversible de l'activité de la préparation. Le Ca^{++} joue également ici un rôle protecteur dans certaines limites de concentration.

On peut montrer que le Hg est rapidement fixé par le tissu cardiaque et que le rejet est impossible par lavage : en 4 minutes, une solution contenant 20 ppm de Hg^{++} provoque une accumulation de 103 ppm dans l'oreillette, en 12 minutes, une solution de 2 ppm y provoque une accumulation de 40 ppm .

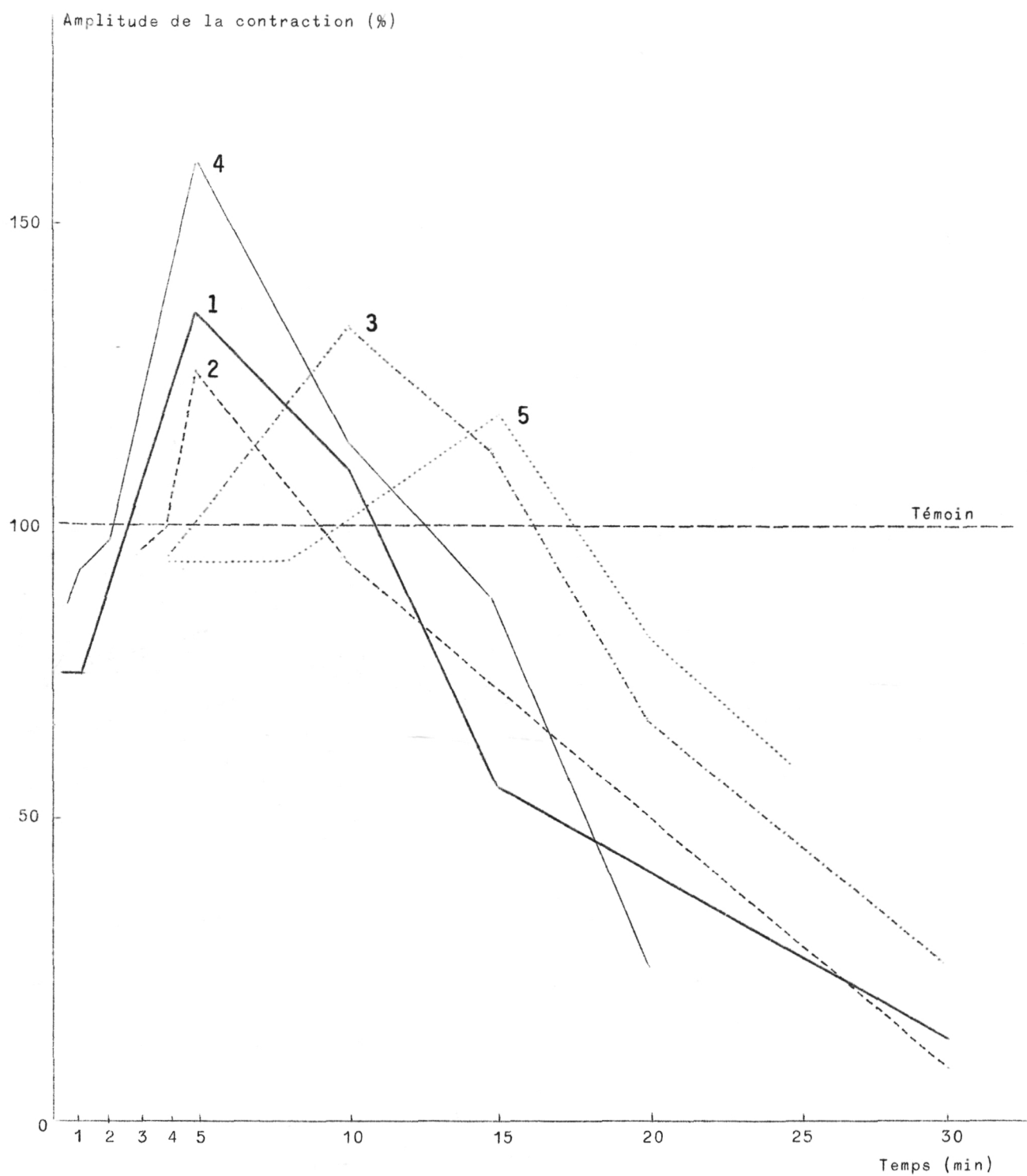


fig. 23.- Effet de différentes concentrations de HgCl_2 sur l'amplitude des contractions cardiaques : (1) 20 ppm , (2) 10 ppm , (3) 5 ppm .
Intoxication pendant quatre minutes suivie d'un lavage dans la solution physiologique normale pendant vingt minutes : (4) 20 ppm , (5) 2 ppm .

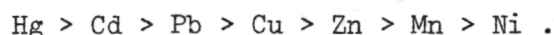
Il a toutefois été observé que les fibres cardiaques d'anguilles dont le sang contient 2 ppm de Hg, semblent réagir normalement ce qui tendrait à démontrer que dans le sang, le Hg est masqué et probablement lié aux protéines.

2.- Effet sur la perméabilité de la fibre cardiaque isolée

Le Hg provoque une diminution du potentiel d'action et une augmentation globale à la perméabilité à tous les ions, ce qui correspond en fait au court-circuitage du potentiel de membrane.

Conclusions

L'effet des métaux lourds sur l'activité de la fibre cardiaque d'anguille permet d'établir une échelle de toxicité en ordre décroissant :



Les études ultérieures porteront sur l'analyse d'effets compétitifs entre métaux, sur l'effet du CH_3HgCl , le rôle protecteur du Ca^{++} , l'effet des pesticides organiques. Les recherches sur le Hg seront étroitement corrélées avec celles menées sur l'anguille entière.

Les résultats débouchent tout naturellement sur d'intéressants problèmes fondamentaux qui ne seront toutefois pas étudiés en profondeur. L'essentiel nous paraît plutôt de considérer la préparation physiologique comme une sorte de détecteur perfectionné en vue d'estimer les effets perturbateurs de substances étrangères sur une propriété fondamentale de l'activité cellulaire.

B.- EFFETS SYNERGIQUES DES POLLUANTS SUR LA CROISSANCE DE FLAGELLES
PHOTOTROPHES ET SUR DES CHAINES ALIMENTAIRES SIMPLES

Laboratoire du professeur PERSOONE

MM. Persoone et Uyttersprot ont étudié l'effet global d'eaux polluées, prélevées en mer du Nord, sur la croissance des flagellés autotrophes *Monochrysis lutheri* et *Dunaliella salina*.

Les échantillons d'eau après traitement sur des filtres laissant passer les particules de $0,2 \mu$ proviennent de 25 points du réseau examiné dans le cadre de l'étude interdisciplinaire de la pollution en mer du Nord.

Les flagellés proviennent de souches sélectionnées et servent à ensemencer les échantillons d'eau où leur croissance se poursuit ensuite dans des conditions standard, rigoureusement contrôlées en ce qui concerne la température, le CO_2 , la longueur d'onde et l'intensité lumineuse.

Le comptage des cellules par unité de volume permet de suivre la croissance dans les cultures réalisées avec ou sans milieu nutritif ajouté. Les blancs correspondent à des mesures en eau de mer artificielle. Les résultats sont exprimés par le rapport en % des intégrales des courbes de croissance observées en milieu naturel, avec ou sans ajout et dans le milieu artificiel. Ils sont également exprimés par le rapport du nombre de cellules dans le test au nombre de cellules dans le blanc, observés après 120 h de culture.

Cette dernière façon de représenter les résultats permet de tenir éventuellement compte de l'allure irrégulière de la sigmoïde de la courbe de croissance.

1.- *Monochrysis lutheri* avec milieu de culture d'appoint

La figure 24 montre par des blocs noirs ou blancs dirigés vers le haut l'effet potentiateur des échantillons d'eau naturelle; un effet inhibiteur est indiqué vers le bas.

Les résultats, bien qu'assez variables, indiquent :

- a) un effet potentiateur de croissance le long des côtes belges (points 1, 2, 3, 4, 5, 11);

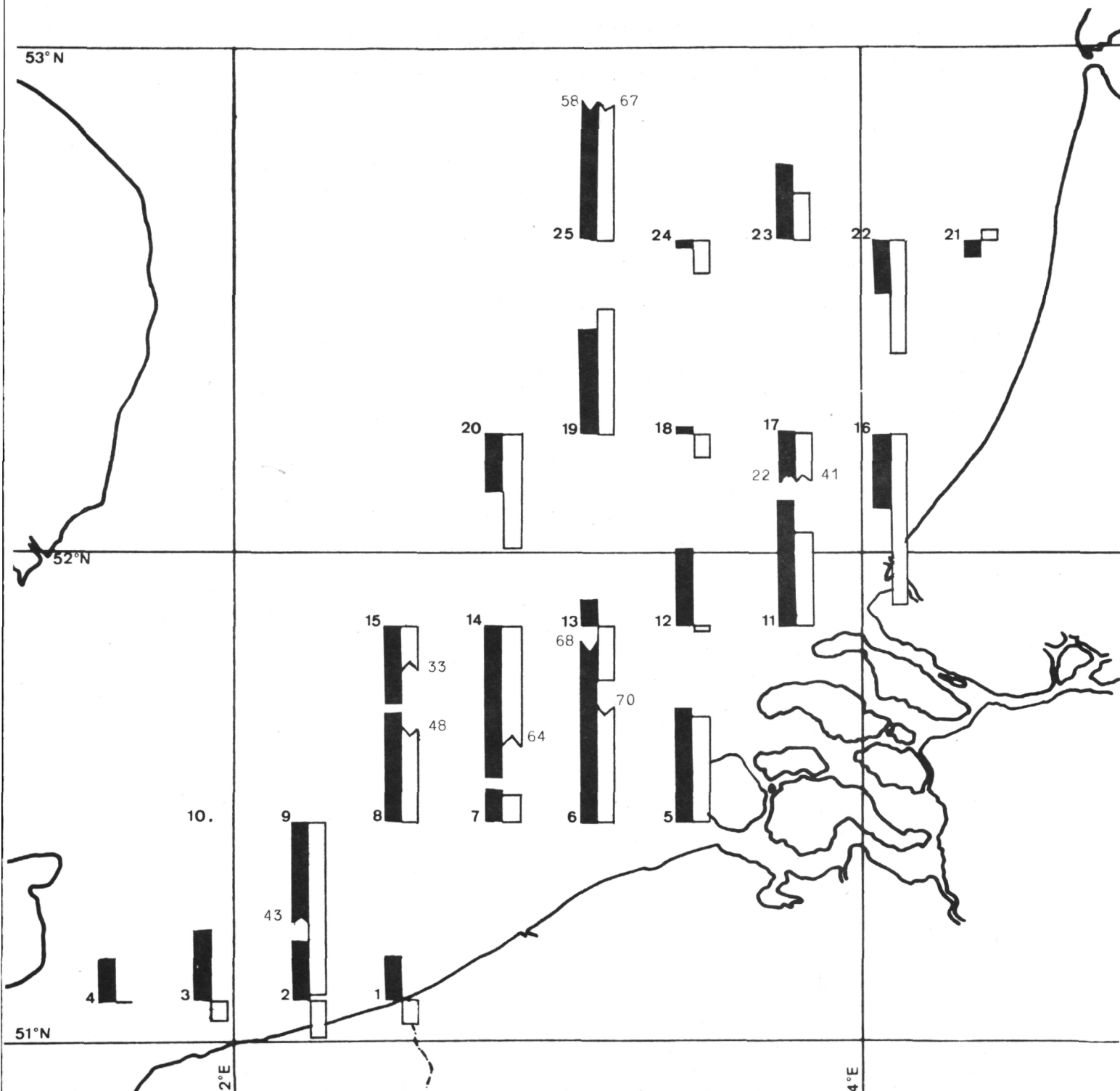


fig. 24.- Croissance de *Monochrysis lutheri* dans des échantillons d'eau (avec milieu de culture d'appoint) prélevés aux points du réseau orthogonal.

- b) un effet potentiateur marqué au niveau de l'estuaire de l'Escaut (points 11, 12, 5, 6), le point 6 apparaissant comme privilégié;
- c) l'existence d'un gradient décroissant vers le large (points 11, 12, 13, 14).

2.- Dunaliella salina

2.1.- Avec milieu de culture d'appoint

La figure 25 révèle une image très différente de la figure 24.

- a) Les points le plus loin de la côte donnent les meilleurs résultats (19, 20, 21, 22, 23, 24, 25);
- b) les autres points donnent des valeurs proches des blancs, même au voisinage de l'Escaut où cependant le point 6 continue à faire exception.

2.2.- Sans milieu de culture d'appoint

La figure 26 indique un effet inhibiteur dans les eaux non enrichies : les points 12, 13, 5, 6, 7 et 8 sont révélateurs à cet égard et on notera que le point 6 n'est ici que légèrement positif.

On voit que la présence de grandes quantités de substances nutritives masque quelque peu l'effet inhibiteur de l'eau et que les résultats obtenus sur *Dunaliella salina* sont inverses de ceux observés sur *Monochrysis lutheri*. Il reste cependant à examiner la croissance de cette dernière espèce en l'absence de milieu nutritif d'appoint.

Des études réalisées sur des échantillons prélevés aux environs de Lombardzijde montrent qu'il existe des variations saisonnières et que les eaux de l'Yser peuvent être inhibitrices.

Conclusions

La méthode mise au point par Persoone et Uyttersprot constitue une approche vers un test biologique de la qualité globale d'une eau de mer.

Idéalement, un tel test devrait permettre d'évaluer la synergie ou l'antagonisme entre polluants et matières nutritives et pourrait servir

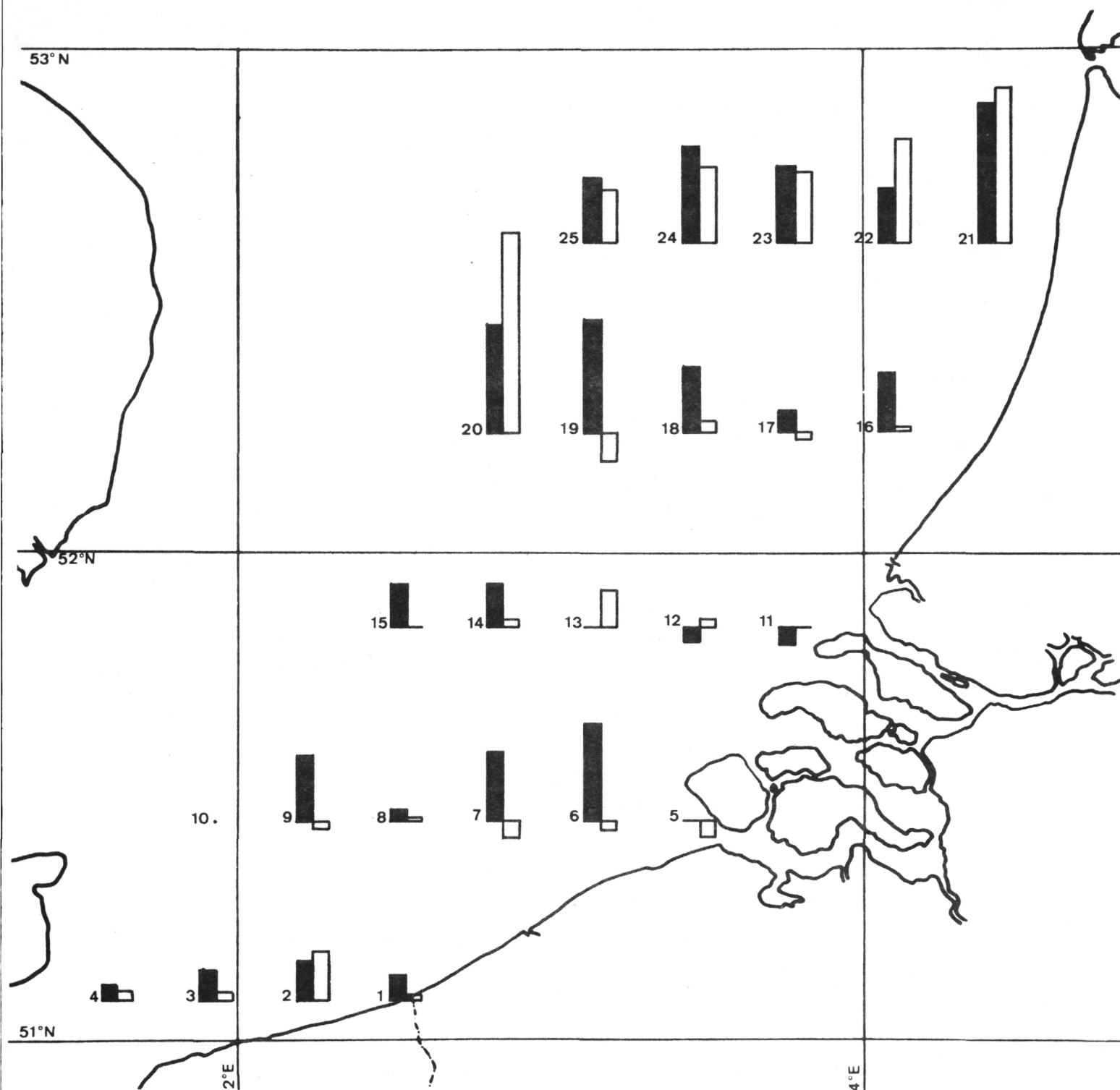


fig. 25.- Croissance de *Dunaliella salina* dans des échantillons d'eau (avec milieu de culture d'appoint) prélevés aux points du réseau orthogonal.

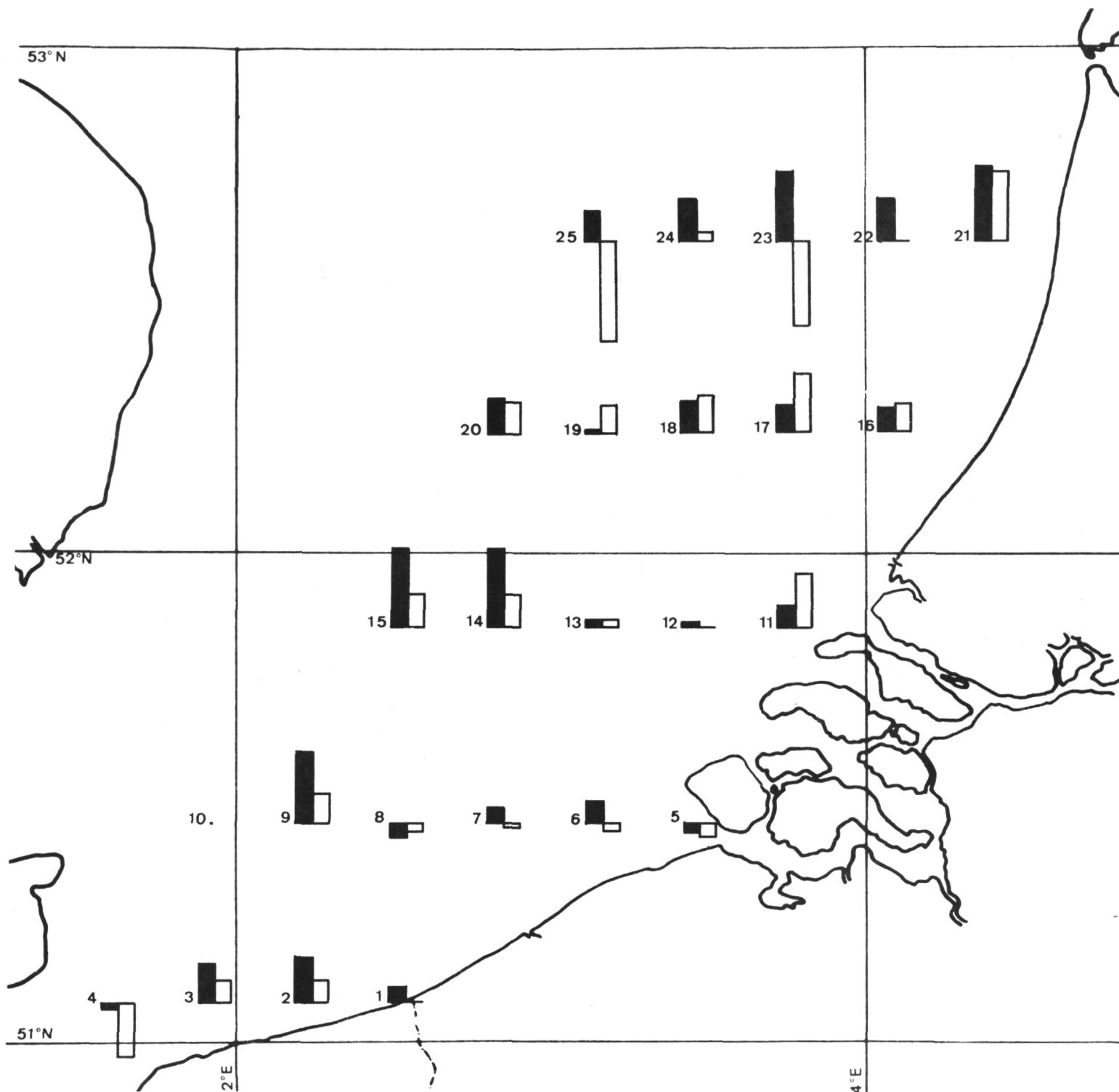


fig. 26.- Croissance de *Dunaliella salina* dans des échantillons d'eau (sans milieu de culture d'appoint) prélevés aux points du réseau orthogonal.

d'indice en vue du contrôle des eaux côtières. On voit toutefois que les résultats varient selon l'espèce de flagellé utilisée et que la corrélation avec la composition de l'eau est très difficile. Les eaux côtières, en plus des polluants, peuvent contenir des hormones végétales naturelles aux effets positifs ou négatifs sur la croissance.

L'utilisation simultanée des deux espèces conduirait, du fait de la compétition pour le substrat, à des résultats encore plus compliqués et l'introduction de prédateurs, tels que copépodes ou autres petits crustacés, eux-mêmes susceptibles d'être la proie de poissons, conduirait à un système dont l'analyse ne pourrait être poursuivie que par l'établissement d'un modèle dynamique de population multiple.

On s'aperçoit rapidement que même dans des cas aussi simples que ceux décrits ici, on se trouve acculé par le nombre de paramètres, à chercher à décrire les interactions au sein du système par l'analyse des corrélations sur de longues séries temporelles.

Les cultures d'algues sélectionnées dans des milieux parfaitement contrôlés chimiquement, en présence d'un ou deux types de prédateurs sont en fait des modèles réduits de courtes chaînes alimentaires et leur analyse détaillée permettrait de déterminer des paramètres cinétiques d'un intérêt évident. Des essais sont en cours dans ce sens dans les laboratoires du professeur Persoone.

Cette approche paraît peut-être plus prometteuse que celle de la recherche d'un test biologique de la qualité de l'eau et ouvre la porte au moyen de tester en laboratoire la validité d'un modèle de population dont la complexité peut être contrôlée et d'examiner la toxicité de certaines substances introduites dans des chaînes alimentaires limitées.

CONCLUSIONS GENERALES

Sans entrer dans les détails expérimentaux que l'on trouvera dans les rapports techniques de chaque laboratoire, l'auteur, en présentant les principaux résultats, souhaite mettre l'accent sur le message qu'apportent les physiologistes dans l'ensemble des recherches qui concernent la pollution marine.

Pour les physiologistes, tout être vivant se manifeste par ses fonctions, que ce soit la respiration, la filtration de l'eau, la croissance ou la perméabilité cellulaire et l'osmorégulation, tous ces phénomènes révèlent l'adaptabilité des systèmes vivants et leur pouvoir, grand ou petit, de résister à des perturbations. L'approche du physiologiste est essentiellement tournée vers la dynamique des systèmes et sous-systèmes vivants et elle le conduit inévitablement, vu le nombre de paramètres et la complexité des interrelations à la confection de modèles partiels qui se veulent de plus en plus précis et réalistes et finissent par aboutir aux phénomènes à l'échelle cellulaire. Le physiologiste garde pourtant constamment à l'esprit le comportement global de l'animal ou du végétal aux multiples fonctions et en général toute étude débute par l'examen de ces réactions générales.

Tout naturellement, l'assemblage des animaux et des végétaux aboutit pour lui à une image dynamique de la biosphère, dont la mer, qu'il considère elle-même comme un gigantesque être vivant où les populations jouent le rôle d'organes aux fonctions diverses. Il est clair toutefois que la recherche des propriétés fondamentales et des interactions pour un ensemble aussi complexe exige l'énorme capacité de mémoire des ordinateurs modernes et l'utilisation des données n'est possible qu'à condition de connaître sous forme mathématique les lois qui gouvernent la cinétique du système et de ses divers compartiments. Cette démarche est la seule qui nous permette de tenter de gérer le milieu marin et d'y arriver avant qu'il ne soit trop tard.